

**PHAGOZYTÖSE-ASSOZIIERTE CHEMILUMINESZENZ
BEI UNBEHANDELTEN NIERENTRANSPLANTATABSTOSSUNG**
Eine experimentelle Untersuchung

FLORIAN SCHÖDEL

*Less
München
1906*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung der Universität München,
Klinikum Großhadern

Vorstand: Prof.Dr.Dr.h.c. W. Brendel

PHAGOZYTÖSE-ASSOZIIERTE CHEMILUMINESZENZ BEI UNBEHANDELTER
NIERENTRANSPLANTATABSTOSSUNG
-Eine experimentelle Untersuchung-

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Florian Schödel
aus
München
1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.med.Dr.med.h.c. W. Brendel

Mitberichterstatter: Prof.Dr.med. M. Knedel

Dekan: Prof.Dr.med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 13.5.1986

1. Einführung

2. Ziele und Aufgaben

2.1. Zielsetzung

2.2. Aufgabenstellung

2.3. Projektorganisation

a) Verantwortlichkeiten

a) Rollen und Funktionen

a) Kommunikationsstruktur

2.4. Zeitplan und Meilensteine

2.5. Risikoprüfung / Risikoanalyse

a) Identifikation

a) Bewertung der Risiken

2.6. Wirtschaftlichkeit

2.7. Umweltverträglichkeit

2.8. Zusammenfassung

3. Ergebnisse

3.1. Wirtschaftliche Ergebnisse

3.2. Umweltverträglichkeit / Umweltverträglichkeitsprüfung

3.3. Zusammenfassung

a) Ergebnisse

a) Bewertung der Ergebnisse

a) Schlussfolgerungen

a) Empfehlungen

a) Zusammenfassung

4. Schluss

4.1. Zusammenfassung

a) Zielsetzung und Aufgaben

a) Ergebnisse und Zusammenfassung

a) Zusammenfassung

Für Vera

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Material und Methoden	
1. Versuchstiere	3
2. Versuchsablauf	3
3. Transplantation	
a. Anaesthesie	3
b. Nierenentnahme	4
c. Implantation	5
4. Postoperative Versorgung	6
5. Feinnadelaspirationszytologie	
a. Technik	6
b. Corrected Increment	7
6. Zellseparation	8
7. Chemilumineszenz	9
8. Statistik	11
C. Ergebnisse	
1. Feinnadelaspirationszytologie	13
2. Leukozytendifferentialwerte im peripheren Blut	14
3. Chemilumineszenz	
a. Vollblut	20
b. Separierte Granulozyten	25
c. Mononukleäre Zellen	30
d. Feinnadelaspirate	36
D. Diskussion	
1. Zu Material und Methoden	
a. Modell und Versuchstiere	42
b. Feinnadelaspirationszytologie	44
c. Chemilumineszenz	45

2. Phagozytenfunktionen und Abstoßung	49
3. Chemilumineszenz und Abstoßung	55
4. Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlußfolgerungen	58
E. Zusammenfassung	62
F. Tabellenanhang	64
G. Bisher veröffentlichte Teilaspekte vorliegender Arbeit	75
H. Literaturverzeichnis	76

A. Einleitung

Die Nierentransplantation, insbesondere die Transplantation von Leichennieren nichtverwandter Spender, ist im letzten Jahrzehnt zu einer klinischen Routinemethode in der Behandlung des terminalen Nierenversagens entwickelt worden. Trotz verbesserter Immunsuppression bleibt die akute Abstoßung, als entzündliche Reaktion des Empfängers auf das körperfremde Gewebe, die häufigste Komplikation, die zum Verlust der transplantierten Niere führt (104,116,140). Ihre frühe Erkennung mit möglichst nichtinvasiven Methoden muß daher eine Hauptaufgabe der postoperativen Überwachung sein. Die gezielte Behandlung der Abstoßungsreaktion hat ihre Bedeutung außerdem wegen der hohen Morbidität und Mortalität transplanzierter Patienten an Folgen der unspezifischen Immunsuppression, wie generalisierten viralen und bakteriellen Infektionen und Lymphomen (31,93,116,158). Diese Komplikationen der immunsuppressiven Therapie dürften dazu beitragen, daß bei entsprechender Gewichtung der Vorerkrankungen die Lebenserwartung niereninsuffizienter Patienten nach Transplantation von Nieren nicht verwandter Spender noch nicht über der unter Dialysebehandlung liegt (87,100,172).

Die histologische Diagnose einer Abstoßungsreaktion wird aus der Stanzbiopsie gestellt (56,96,101,148,149). Von der finnischen Gruppe um P.Häyry wurde die weniger traumatische Feinnadelaspirationszytologie eingeführt (81,82,125,126,177). Eine gute Übereinstimmung von Feinnadelaspirationszytologie und histologischer Abstoßungsdiagnose konnte gezeigt werden (17,98). In der vorliegenden Arbeit wird die mittels Feinnadelbiopsie gewonnene Zytologie als Referenzmethode verwandt.

Im Bemühen, die immunologischen Mechanismen der Transplantatabstoßung zu erforschen und mögliche diagnostische Hinweise zu gewinnen, ist eine Vielzahl von

Funktionen und morphologischen Charakteristika der Bestandteile des zugänglichsten menschlichen Organs, des Blutes, untersucht worden. Hier sei nur auf zwei Übersichten verwiesen: (92,132). Dabei galt das Augenmerk hauptsächlich den lymphozytären Eigenschaften, eingedenk der Schlüsselrolle der Lymphozyten in der Eigen/fremderkennung und der Regulation der Immunantwort (14,32,61,68,74,75,76,92,107,120,133,155,163,168,169,171,173).

Baldridge zeigte 1933 (13) an Hundegranulozyten einen Sauerstoffmeherverbrauch unter Phagozytose, der später als 'respiratory burst' bezeichnet und als extramitochondriales System der Erzeugung mikrobizider reaktiver Sauerstoffspezies vor allem von den Arbeitsgruppen um Karnovski und Quastel analysiert wurde (88,145,154). Mit der Beschreibung der nativen Chemilumineszenz (1) und insbesondere der luminol- und lucigeninverstärkten Chemilumineszenz durch Allen et al. (1,2,3,4,6) wurde ein empfindliches Meßverfahren für diese Funktion von Phagozyten - die Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies - geschaffen. Damit ist es möglich, eine Änderung dieser metabolischen Aktivität von Granulozyten, Monozyten und Makrophagen bei verschiedenen entzündlichen Reaktionen und Krankheitsbildern, sowie in vorliegender Arbeit der Nierentransplantatabstoßung zu messen.

Ziel der Untersuchungen war, die Veränderungen der phagozytoseinduzierten Chemilumineszenz, sowohl mit Luminol-, als auch Lucigeninverstärkung im Vollblut, separierten Granulozyten, mononukleären Zellen und intrarenalen Phagozyten während Transplantatabstoßung an der unbehandelten Nierenabstoßung beim Hund zu untersuchen und mit den Ergebnissen der Feinnadelaspirationszytologie zu vergleichen. Allogen und gleichzeitig auf der Gegenseite autolog transplantierte Hunde dienten als Versuchsmodell. Zur Kontrolle wurde eine zweite Gruppe von Hunden beidseitig autolog transplantiert.

B. Material und Methoden

1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 16 mischrassige männliche ($n=4$) und weibliche ($n=12$) Hunde eines mittleren Körpergewichts von 21.8 kg ($s=3.4$). Als Spender dienten 5 nichtverwandte mischrassige Hunde eines mittleren Gewichts von 19.3 kg ($s=2.1$).

2. Versuchsablauf

10 Hunde wurden auf einer Seite allogren, auf der Gegenseite autolog nierentransplantiert. 6 Hunde wurden als Kontrollen beidseits autolog transplantiert. Am Tag vor der Operation, sowie an 8 auf die Operation folgenden Tagen wurde venöses Blut entnommen und die Phagozytose-assoziierte Chemilumineszenz aus verdünntem Vollblut, separierten Granulozyten und Monozyten gemessen. Ebenfalls täglich wurden die Transplantate feinnadelbiopsiert und aus den Aspiraten sowohl die Zytologie gewonnen, als auch die Chemilumineszenz gemessen. Nach Beendigung des Versuchs wurden alle Tiere seziert und ein Teil der transplantierten Organe auch histologisch untersucht.

3. Transplantation

a. Anästhesie

Die Nierentransplantation wurde in einer Kombinationsnarkose durchgeführt.

Eine halbe Stunde vor Operationsbeginn wurden 0.5 mg Atropinsulfat (Drobena, Berlin) und 0.03 ml/kg KG eines Phenoziathinpräparates (Combelen, Bayer, Leverkusen) i.m. verabreicht. Direkt vor Narkoseeinleitung wurde als Analgetikum 0.4 ml/kg KG Levomethadon (1-Polamivet, Hoechst AG, Frankfurt a.M.) i.m. injiziert. Nach orotrachealer Intubation wurde die Narkose mit einem Lachgas/Halothangemisch eingeleitet. Es wurde mit einem Sauerstoff/Lachgasverhältnis von 1:2 maschinell beatmet (Engström ER 300, LKB, Stockholm, Schweden) unter Beimischung von 0.3 - 0.6 Vol. % Halothan (Hoechst AG, Fft. a. M.) über einen Dräger- (Vapor 19, Drägerwerke, Kiel) oder Engströmverdunster (Fluotec 3, s.o.). Während der Narkosedauer wurden Herzfrequenz und EKG mittels Monitor überwacht (Siemens AG, München). Über die Gesamtoptionsdauer wurde langsam ein Liter Ringerlösung (Apotheke der klinischen Universitätsanstalten, München, im Folgenden : Apotheke) i.v. infundiert. Bei Narkoseausleitung wurde bis zum Einsetzen einer ausreichenden Spontanatmung nachbeatmet.

b. Nierenentnahme

Nach Rasur, Hautentfettung mit Äther und Waschbenzin (Apotheke) und sorgfältiger Oberflächendesinfektion (Kodan, Schülke und Mayr, Norderstedt) wurde unter aseptischen Bedingungen median laparotomiert. Die Niere wurde dargestellt, die Nierengefäße möglichst ohne Traumatisierung des Hilus freipräpariert und der Ureter am Eingang ins Becken aufgesucht und distal ligiert. Nach Absetzen des Ureters erfolgte die Ligatur von a. und v. renalis in Nähe der v. cava, bzw. aorta mit folgender scharfer Durchtrennung. Die Nierenarterie wurde sofort mit einem Luer-Record Adapter (B. Braun Melsungen, Melsungen) kanüliert und mit einem halben

Liter heparinisierte (5000 IU/l, Heparin-Natrium, B.Braun) und auf 4 Grad Celsius vorgekühlter Euro-Collins Lösung (Biotest Pharma, Dreieich) perfundiert. Die Lagerung bis zur Implantation erfolgte in Euro-Collins auf gefrorener isotoner Kochsalzlösung. Bei autolog zu transplantierenden Hunden schloß sich die Entnahme der zweiten Niere an, bei allogenen zu transplantierenden die Entnahme einer eigenen Niere.

c. Implantation

Die Iliakalgefäße des Empfängers wurden dargestellt und beginnend mit der v. iliaca communis Seit-zu-End unter Ausklemmung, gefolgt von der a. iliaca com. End-zu-End in fortlaufender Nahttechnik (Prolene 6-0 oder 7-0, Ethicon, Norderstedt) mit den Nierengefäßen anastomosiert. Während der Anastomosennaht wurden die Nieren kontinuierlich mit 4 Grad kalter Euro-Collins gekühlt. Die zuerst entnommene Niere wurde stets auch zuerst anastomosiert, so daß die kalte Ischämiezeit beider Transplantate bei eineinhalb Stunden lag. Nach Prüfung der Anastomosendichtheit wurden diese freigegeben und in einer Modifikation der Gregoir'schen Technik (43,70,128) die Ureteroneocystostomie als posteriore extravesikale Antirefluxplastik angeschlossen. Die Laparatomie wurde schichtweise mit resorbierbarem Nahtmaterial (Vicryl, Ethicon) verschlossen.

4. Postoperative Versorgung

Am 1. postoperativen Tag wurden 250 ml Elektrolytlösung (Tutofusin, Pfrimmer, Erlangen) i. v. infundiert. Alle Tiere hatten ab diesem Zeitpunkt freien Zugang zu Futter und Wasser, und erhielten ein Penicillin-Streptomycin Depotpräparat (Tardomyocel Comp III, Bayer, Leverkusen) in einer Dosierung von 0.1 ml/kg KG subcutan in zweitägigem Abstand bis zum Versuchsende. Täglich wurden aus dem venösen Blut Harnstoff (Merckognost, Merck, Darmstadt), Hämatokrit (Haematokrit Zentrifuge, Hettich, Tuttlingen), Leukozyten- und Erythrozytenzahl und Hämoglobingehalt (Clay Adams Hematology Analyzer 5, Becton, Dickinson and Co., Parsippany, USA) bestimmt. Eine Darstellung von Harnstoff-, Hämatokrit-, Erythrozyten- und Hämoglobinwerten unterbleibt im Folgenden, da ohne Belang für die Fragestellung. Täglich wurden Blutaussstriche verfertigt, nach Pappenheim gefärbt, und ein Differentialblutbild nach gängigen morphologischen Kriterien erstellt (16).

5. Feinnadelaspirationszytologie

a. Technik

Zur Durchführung der Feinnadelbiopsie erhielten die Hunde eine intravenöse Methohexital Kurznarkose (100-140 mg, Brevimythal Natrium, Lilly, Homburg). Nach Oberflächendesinfektion (Kodan) des Biopsiegebiets wurden die transplantierten Nieren palpiert und mit einer Kinderspinalnadel (22G 3 1/2, Becton und Dickinson, San Agustin de Guadalix, Spanien) punktiert. Eine mit 2 ml heparinisierte (100 IU/ml) Hankscher Lösung gefüllte 10 ml Einwegspritze (B.Braun) wurde in einen Halter (Cameron AB,

Täby, Schweden) eingespannt und auf die Spinalnadel aufgesetzt. Durch Sog wurden unter leichtem Hin- und Herbewegen der Biopsievorrichtung Zellen aus der Niere in die Spritze aspiriert und anschließend in insgesamt 4ml heparinisierte Hankscher Lösung suspendiert. Aus den Zellsuspensionen wurden Zytozentrifugenpräparate (Cytospin 2, Shandon, Runcorn, England) hergestellt und nach Pappenheim gefärbt. Die morphologische Differenzierung erfolgte unter dem Lichtmikroskop (Standard 16, Zeiss, Oberkochen) nach den bei Häyry ausführlich beschriebenen (81) Kriterien. Gleichzeitig wurde ein Tropfen peripheren venösen Blutes in 4ml Hankscher Lösung verdünnt und damit ebenso verfahren.

b. Corrected Increment

Nach morphologischer Differenzierung von Blut- und Feinnadelpräparat - je mindestens 200 differenzierte Zellen, nur Feinnadelbiopsien mit >5 Parenchymzellen auf 100 Leukozyten wurden verwertet - wurden die prozentualen Anteile der jeweiligen Leukozytensubpopulationen im Blut von den in der Feinnadelbiopsie ermittelten abgezogen und das resultierende positive Einzelincrement mit einem von Häyry beschriebenen Bewertungsfaktor multipliziert (81,82). Die einzelnen Faktoren können Tab. 1 entnommen werden. Die Addition der gewichteten Einzelinkremente ergab das 'Total Corrected Increment', im Folgenden als Corrected Increment bezeichnet.

Tab.1 Korrekturfaktoren der Einzelinkremente nach Häyry et al. (81,82)

Lymphoblasten	1.0
Plasmablasten und -zellen	1.0
Aktivierte Lymphozyten	0.5
Large Granular Lymphocytes	0.2
Granulozyten	0.1
Monoblasten	1.0
Monozyten	0.2
Makrophagen	1.0

6. Zellseparation

Je 1ml heparinisierten (100 IU/ml) Blutes wurden mit 9ml Hankscher Lösung verdünnt, über 3ml Ficoll-Isopaque (Apotheke) der Dichte 1.075 g geschichtet und 15 Minuten bei Raumtemperatur mit 3000 rpm (Hettich Rotanta K oder S, Hettich, Tuttlingen) zentrifugiert (27). Der mononukleäre Ring über dem Ficoll wurde abgehoben und in Hankscher Lösung resuspendiert. Die unter dem Ficoll befindlichen Granulozyten und Erythrozyten wurden entnommen, 30 Sekunden mit 3ml aqua dest. lysiert, dann mit 1,8% Kochsalzlösung wieder isoton gelöst, und beide Zellsuspensionen zweimal mit Hankscher Lösung gewaschen (je 1200 rpm/10 Minuten, Rotanta). Nach dem zweiten Waschvorgang wurden die Pellets in je 1ml Calcium- und Magnesium- freiem Phosphat gepuffertem Kochsalz (pH 7,4) gelöst und nach Zählung (Clay Adams) auf 1×10^6 Zellen/ml eingestellt. Von beiden Zellsuspensionen wurden Zytozentrifugenpräparate angefertigt, nach Pappenheim gefärbt und morphologisch differenziert. Die untere Fraktion enthielt stets > 97% Granulozyten (99% neutrophile). Der Anteil an Monozyten und Granulozyten (fast ausschließlich eosinophile) der mononukleären Fraktion ist aus dem Tabellenanhang ersichtlich. Die Vitalität der Zellen wurde mit

Trypanblauauschluß überprüft und lag stets bei 96% oder höher.

7. Chemilumineszenz

Als Verstärkersubstanzen dienten Luminol (5-N-2-3dihydro-1,4-Phtalazindion, 95%-97% Cristallin, Sigma, Taufkirchen) und Lucigenin (N-Methylacridinium, Boehringer, Mannheim). Der leicht modifiziert verwandte Messansatz ist in der Arbeitsanleitung Chemilumineszenz von Boehringer (Mannheim) (23) beschrieben. 3.5mg Luminol wurde in 2ml DMSO (Uvasol, Merck) gelöst und mit acqua bidest (Apotheke) auf eine Konzentration von 200umol/l eingestellt. Lucigenin wurde mit acqua bidest 1mmol/l verdünnt. Beide Substanzen wurden vor dem Versuch angesetzt und bei 4 Grad Celsius gelagert. Veronalgepufferte Salzlösung wurde nach der Arbeitsanleitung (23) angesetzt, steril filtriert und auch bei 4 Grad gelagert. Zymosan (Zymosan A, Sigma, Taufkirchen), 25 mg in 10ml PBS suspendiert, wurde im Wasserbad 30 Minuten auf 90 Grad Celsius erhitzt, im Mörser mechanisch zerkleinert und portionsweise bei -20 Grad aufbewahrt. Zur Opsonierung des Zymosans wurde frisches Serum des jeweiligen Versuchstieres verwendet. Gleiche Teile Serum und Zymosan wurden auf dem Schüttler (Adams Nutator, Becton und Dickinson) bei Raumtemperatur 30 Minuten inkubiert und dann 10 Minuten bei 1200 U/min (Hettich Rotanta K) zentrifugiert. Nach zweimaligem Waschen in 0.9% Kochsalzlösung wurde das Präzipitat in der Ausgangsmenge physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert und bei 4 Grad aufbewahrt. Die für einen Versuch benötigte Zymosanmenge wurde jeweils vor Versuchsbeginn opsoniert. Die Zusammensetzung des Messansatzes ist in Tabelle 2 dargestellt. Zu 650ul

Veronalpuffer (pH 7.3) wurden bereits in die 3ml Meßküvetten (Berthold, Wildbad) jeweils 100ul Lucigenin- oder Luminolverdünnung und 200ul Zellsuspension oder Blutverdünnung pipettiert. Das heparinisierte (100 IU/ml) Vollblut war vorher in Calcium- und Magnesium- freiem PBS 1:10 verdünnt worden (Endverdünnung 1:50 im Messansatz), die Zellen, wie unter 'Zellseparation' beschrieben auf 5×10^5 Zellen/ml eingestellt. Nach einer Vorinkubationszeit von 10 min bei 37 Grad im Dunkeln wurde die Reaktion durch Zufügen von 50ul opsoniertem Zymosan gestartet und mit der Registrierung der Photoneaussendung begonnen. Nach jeder Einpipettierung wurde der Messansatz kurz auf dem Vortex (Cenco Instruments, Breda, Niederlande) gemischt. Die Messzeit betrug für Luminol 30 Minuten und für Lucigenin 40 Minuten, um den in Vorversuchen ermittelten Zeitpunkt des Chemilumineszenzmaximums sicher in der Messzeit zu haben. Alle Messungen wurden auf einem LB 9505 6-Kanal Biolumaten (Berthold, Wildbad) rechnergestützt (Apple IIe, Apple Computer, Cupertino, USA) durchgeführt und die Ergebnisse auf einem Matrixdrucker (RX 80, Epson, Nagano-Ken, Japan) ausgedruckt. Eine Originalregistrierung einer luminolverstärkten Messung ist in Abb.1 gezeigt. Blutabnahme und Feinnadelbiopsie für Chemilumineszenzmessung erfolgte täglich zwischen 8:30 und 9:00 Uhr, die standardisierte Zeit zwischen Blutabnahme und Beginn der Vorinkubation betrug 90 Minuten für die luminolverstärkte und 130 Minuten für die lucigeninverstärkte Chemilumineszenz. Ausgewertet wurden maximale Impulse/min (cpm) und integrierte Impulse über die jeweils gesamte Messzeit. Die gezeigten Werte aus Vollblutmessungen sind arithmetische Mittel von Doppelmessungen.

Tab.3

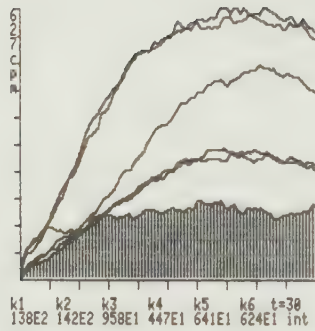
Messansatz

Veronalpuffer	650ul
Luminol 200umol/l oder Lucigenin 1mmol/l	100ul
Blut 1:10 oder 10'5 Zellen	200ul
Autolog opsoniertes Zymosan	50ul

Gesamtvolumen	1000ul

8. Statistik

Zwei unabhängige Stichproben wurden mit dem U-Test nach Mann und Whitney, gepaarte Stichproben mit dem Wilcoxon-Test verglichen (143). Als Signifikanzschwelle wurde $p \leq 0.05$ gewählt. In den Abbildungen sind signifikante Unterschiede mit einem Stern bezeichnet, nicht signifikante Unterschiede sind nicht gesondert gekennzeichnet. Die Nichtnormalverteilung wurde nach David (143) innerhalb der Grenzen für eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 10% ausgeschlossen. In Abbildungen und Tabellen sind, wo nicht gesondert gekennzeichnet, arithmetische Mittel $\bar{x}$ und deren Standardfehler s_x gezeigt.



PEAK (CPM)	ZEIT H. MAX (ANSTIEBSPLANKE)	ZEIT MAX	ZEIT H. MAX (RUED PLANKE)
1.	2.	3.	4.
K1=616	6.3	23.3	0
K2=627	6	24.6	0
K3=500	10.3	24.3	0
K4=188	1	18	0
K5=307	8.3	20.6	0
K6=297	7	25	0
ALLE MESSWERTE X1000 (CPM)			
ZEITEN IN MINUTEN			
MESSREIHE 1 Q28 1 LUM			
DATUM : 290385			
BENUTZER : FS			
FOMENTAR ZU KANAL 1 : BLUT 1			
FOMENTAR ZU KANAL 2 : BLUT 1			
FOMENTAR ZU KANAL 3 : GRANULOZYTEN 100000/ML			
FOMENTAR ZU KANAL 4 : MONONUKL. ZELLEN 100000/ML			
FOMENTAR ZU KANAL 5 : FEINNADELBIOPSIE RECHTS 100000/ML			
FOMENTAR ZU KANAL 6 : FEINNADELBIOPSIE LINKS 100000/ML			
BIOLUMAT LB9505			

Abb.1 Originalregistrierung einer luminolverstärkten und zymosaninduzierten Chemilumineszenzmessung

C. Ergebnisse

1. Feinnadelaspirationszytologie

Eine schnelle Zunahme von Lymphozyten und Monozyten im allogenen Transplantat führt zu einem schon ab dem 2. postoperativen Tag im Mittel erhöhten Corrected Increment, während autologe Transplantate nur geringe Fluktuationen zeigen (Abb. 2). Bei kontinuierlichem Zelleinstrom kommt es zu einem Höhepunkt der Corrected Increment Werte im Allotransplantat am 6. postoperativen Tag. Zu diesem Zeitpunkt sind auch Parenchymzellen in Feinnadelaspiraten allogener Nieren schwer geschädigt. Der Zustand von Parenchymzellen autologer Nieren ist gleichbleibend, manchmal kommt es zur Rückbildung geringfügiger postoperativer Veränderungen. In der Abbildung 2 ist der statistische Vergleich rechter autologer Nieren der Kontrollgruppe, die sich von linken natürlich nicht unterscheiden, mit allogenen der Versuchsgruppe (U-Test) und dieser mit den autologen im selben Tier (Wilcoxon) gezeigt. Diese Vergleichsanordnung wird auch für die Chemilumineszenzwerte beibehalten.

Stichprobenartig wurden 4 allogene und 4 autologe Transplantate histologisch untersucht. Bei den allogenen Transplantaten wurden hämorrhagische Nekrosen und zelluläre Infiltrate im Sinn fortgeschrittener Abstoßungsreaktionen gesehen. Zwei der autologen Transplantate waren völlig unauffällig, zwei zeigten eine, wohl auf das Transplantationstrauma zurückzuführende, geringgradige tubuläre Schädigung.

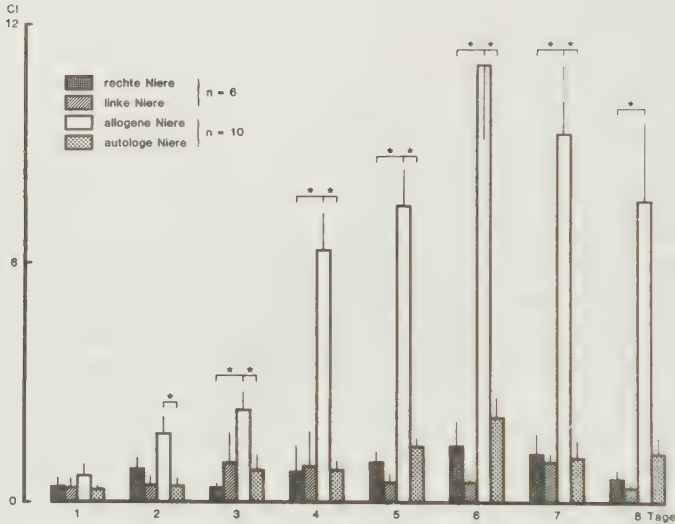


Abb.2 Corrected Increment Werte, rechte und linke Niere in autologer Gruppe, allogene und autologe Niere in allogener Gruppe

2. Leukozytendifferentialwerte im peripheren Blut

Nach einer unmittelbar postoperativen Leuko-, d. h. in erster Linie Granulozytose, sinken Gesamtleukozyten-, wie Granulozytenzahlen in der nur autotransplantierten Gruppe wieder auf präoperative Werte (Abb. 3, Abb. 4).

In der allotransplantierten Gruppe erreichen sie etwa zum Zeitpunkt des maximalen Increments einen neuerlichen Höhepunkt und unterscheiden sich signifikant. Die absoluten Lymphozytenzahlen unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt in den beiden Gruppen signifikant (Abb. 5). Faßt man allerdings Prälymphoblasten und Lymphoblasten im peripheren Blut

zusammen (Abb. 6), so ergibt sich aufgrund ihres zunehmenden Anteils an den Gesamtlymphozyten eine signifikant erhöhte Anzahl an Tag 5 und 6 nach der Operation in den abstoßenden Tieren. Absolute Monozytenzahlen sind in beiden Gruppen postoperativ erhöht, am dritten Tag in der allogenen Gruppe nicht signifikant und am siebten Tag signifikant über die der autologen.

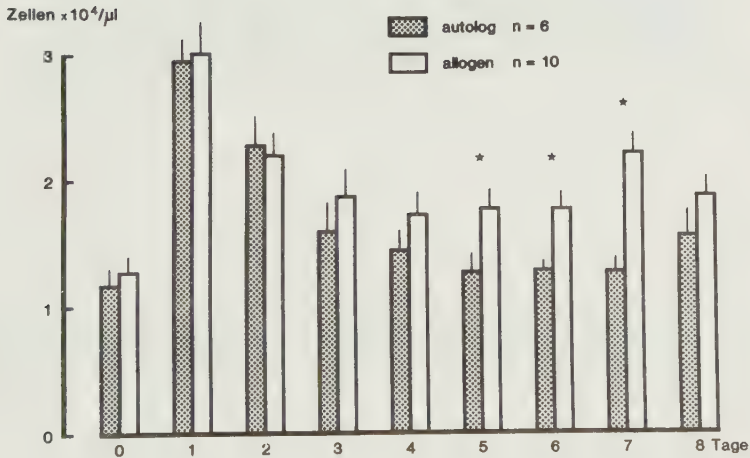


Abb. 3 Absolute Leukozytenzahlen im peripheren Blut

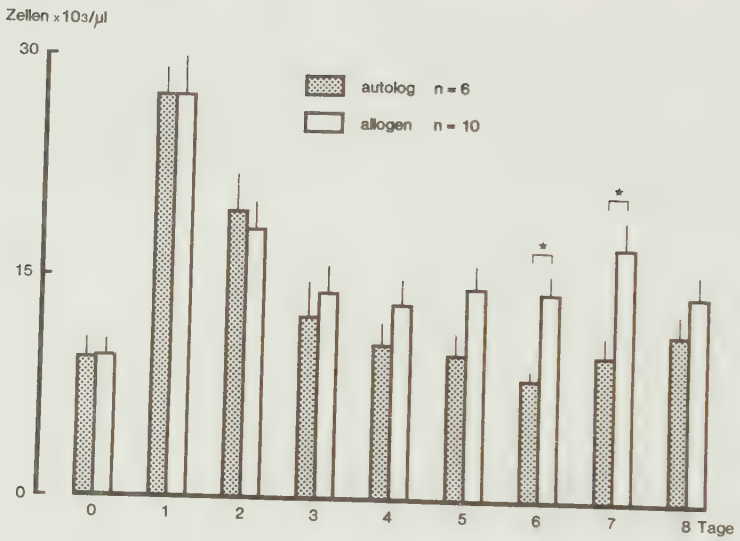


Abb. 4 Absolute Granulozytenzahlen im peripheren Blut

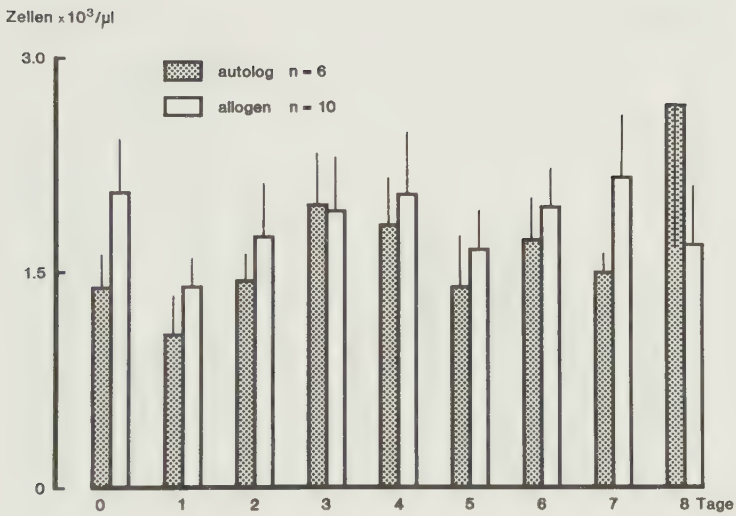


Abb. 5 Absolute Lymphozytenzahlen im peripheren Blut

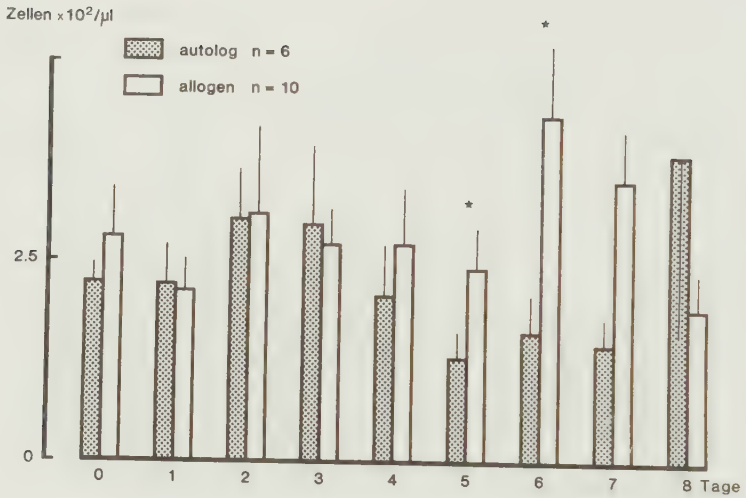


Abb. 6 Absolute Lymphoblasten- und Prälymphoblastenzahlen im peripheren Blut

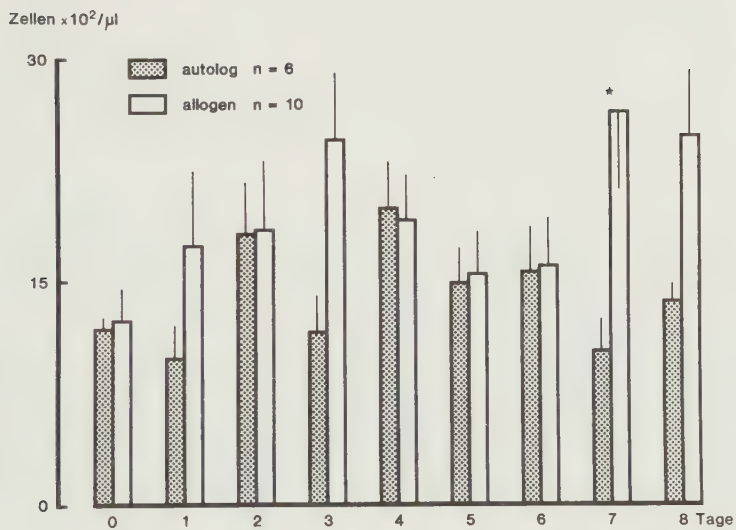


Abb.7 Absolute Monozytenzahlen im peripheren Blut

3. Chemilumineszenz

a. Vollblut

Luminol

Die luminolverstärkte Chemilumineszenzreaktivität von Granulozyten im verdünnten peripheren Vollblut zeigt bei beiden Gruppen einen postoperativen Anstieg, der etwas verschoben zur Leukozytose am zweiten Tag nach Transplantation seinen Höhepunkt erreicht. Die Werte in der allogenen Gruppe liegen ab dem 3./4. Tag nach Transplantation höher, ohne sich signifikant von der autologen Gruppe zu unterscheiden. Lediglich am 1. postoperativen Tag erreicht die relative Erhöhung der Integrale knapp die Signifikanzschwelle. Ansonsten verlaufen Maxima (Abb.8) und Integrale (Abb.9) gleichsinnig.

Lucigenin

Der Verlauf der lucigeninverstärkten Chemilumineszenz im Vollblut entspricht ungefähr der luminolverstärkten. Nach einem postoperativen Anstieg mit Höhepunkt am 2. Tag, bleiben die Werte der allogenen Gruppe über denen der autologen, ohne sich je signifikant von diesen zu unterscheiden. Maxima (Abb.10) und Integrale (Abb.11) unterscheiden sich im Verlauf nicht.

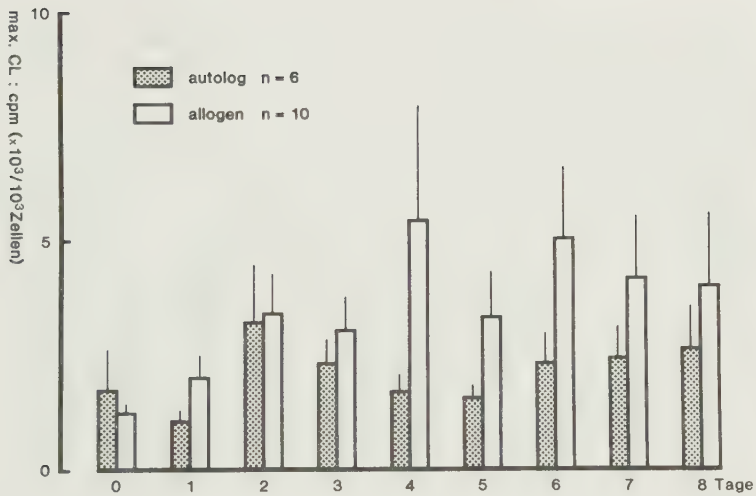


Abb.8 Luminolverstärkte Chemilumineszenz im Vollblut (Maxima pro 1000 Granulozyten)

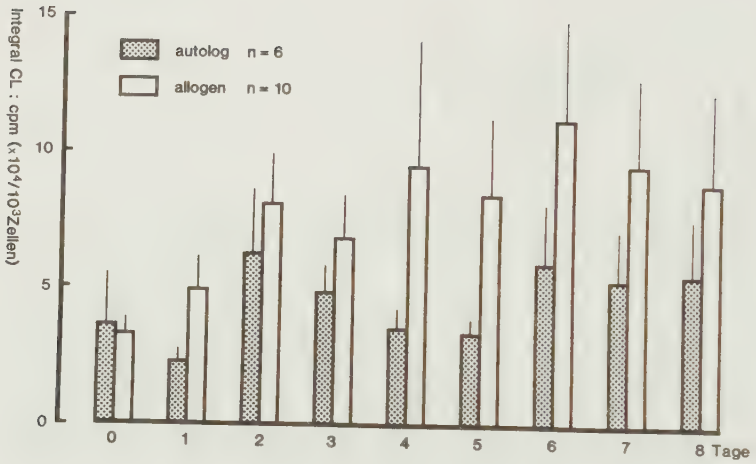


Abb.9 Luminolverstärkte Chemilumineszenz im Vollblut
(Integrale pro 1000 Granulozyten)

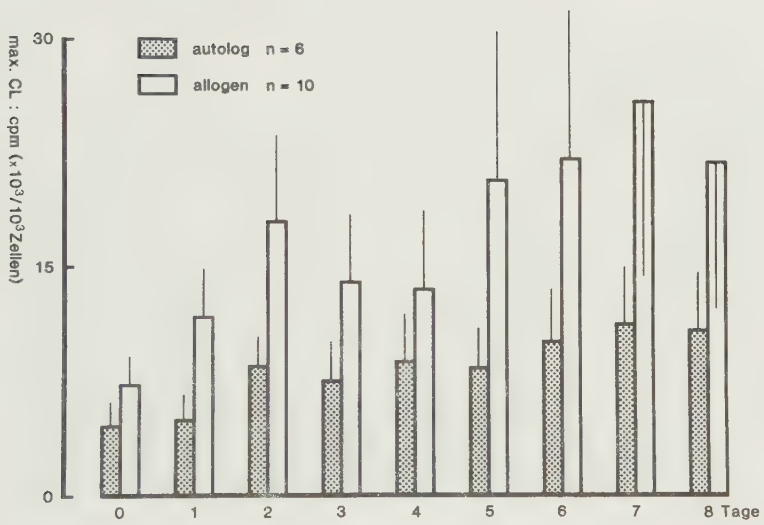


Abb.10 Lucigeninverstärkte Chemilumineszenz im Vollblut
(Maxima pro 1000 Granulozyten)

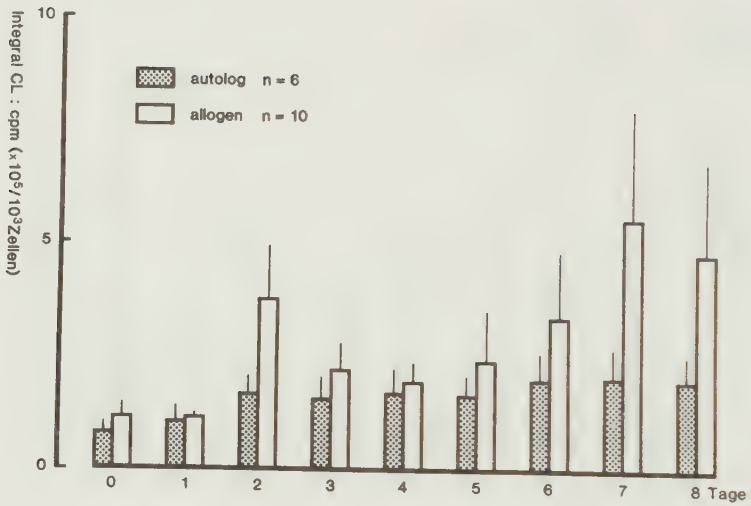


Abb.11 Lucigeninverstärkte Chemilumineszenz im Vollblut
(Integrale pro 1000 Granulozyten)

b. Separierte Granulozyten

Luminol

Die Chemilumineszenzreaktivität separierter Granulozyten zeigt ähnlich dem Vollblut einen postoperativen Anstieg mit Gipfel am zweiten postoperativen Tag in beiden Gruppen. In der autologen Gruppe gehen dann die Werte in Richtung der Ausgangswerte zurück, ohne sie ganz wieder zu erreichen. In der allogenen Gruppe bleiben sie höher und steigen wieder an. Am 5., 7. und 8. Tag nach Transplantation sind die Maxima (Abb.12), am 5., 6. und 7. Tag die Integrale (Abb.13) signifikant gegenüber der Kontrollgruppe erhöht.

Lucigenin

Auch mit Lucigeninverstärkung findet sich ein postoperativer Anstieg der Granulozytenchemilumineszenz, allerdings unterscheiden sich Maxima (Abb.14) und Integrale (Abb.15) bereits am 2. und 3. Tag. Auch die Ausgangswerte sind in der allogenen Gruppe bereits höher, ohne daß der Unterschied statistisch signifikant wird. Bei generell höheren Werten überschreiten in der allogenen Gruppe die Maxima am 5. und 7., und die Integrale am 7. Tag die Signifikanzschwelle.

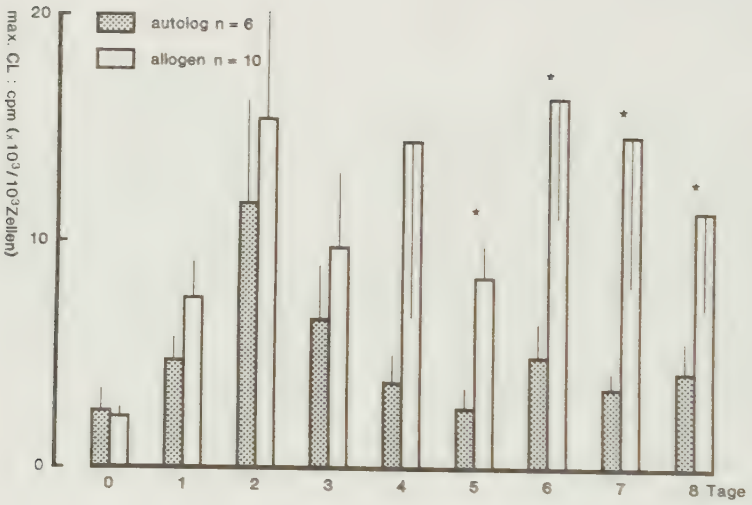


Abb.12 Luminolverstärkte Chemilumineszenz separierter Granulozyten (Maxima)

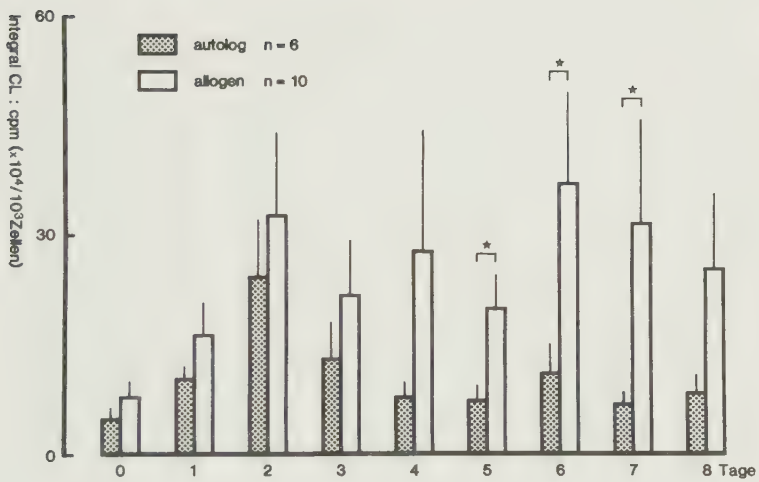


Abb.13 Luminolverstärkte Chemilumineszenz separierter Granulozyten (Integrale)

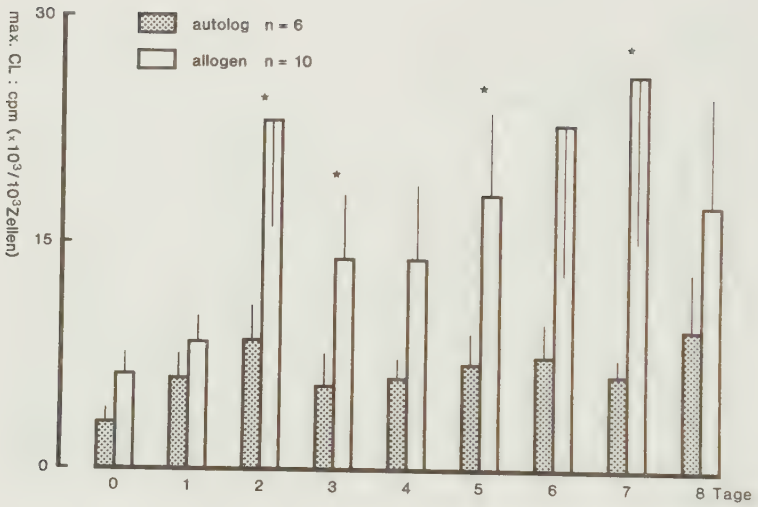


Abb.14 Lucigeninverstärkte Chemilumineszenz separierter Granulozyten (Maxima)

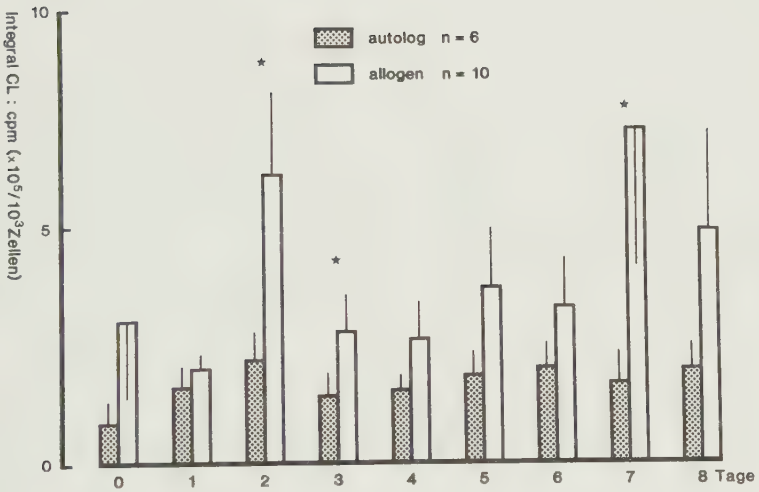


Abb.15 Lucigeninverstärkte Chemilumineszenz separierter Granulozyten (Integrale)

c. Mononukleäre Zellen

Luminol

Bei annähernd gleichen Ausgangswerten ist die luminolverstärkte Chemilumineszenz mononukleärer Zellen aus dem peripheren Blut allotransplantierte Hunde in Maximalwerten wie Integralen (Abb. 16 und 17) signifikant gegenüber der Kontrolle am ersten, zweiten, fünften, sechsten und siebten Tag nach Transplantation erhöht. In der autotransplantierten Gruppe bewegen sich die postoperativen Werte, bei geringen Schwankungen, um $2,5 \times 10^5$ cpm (Integral über 40'), in der allotransplantierten Gruppe zeigt sich eine biphasische Erhöhung mit Maxima am 2. und 5. postoperativen Tag. Auf eine Umrechnung der tatsächlich gemessenen Impulse in Impulse pro 10^3 in den Konzentraten morphologisch differenzierter Monozyten wurde verzichtet, da der Anteil der, wenn auch geringen, Eosinophilenverunreinigung am Meßsignal nicht ermittelt werden kann. Im Tabellenanhang sind die relativen Anteile von polymorphkernigen Granulozyten (>99% Eosinophile) und Monozyten an den Konzentraten angegeben. Irgendein statistischer Unterschied zwischen den Gruppen fand sich in der Zellverteilung nach Separation nicht.

Lucigenin

In der Chemilumineszenzantwort mononukleärer Zellen auf Zymosan unter Lucigeninverstärkung läßt sich ein statistisch erhärtbarer Unterschied zwischen abstoßender und autologer Gruppe nicht zeigen. Die allogene Gruppe zeigt wieder tendenziell erhöhte Werte, die Signifikanzschwelle wird beim Vergleich der Maxima (Abb.18) am 1., der Integrale (Abb.19) am 5. postoperativen Tag überschritten. Betrachtet man z. B. die Integrale, so fällt eine erheblich größere Schwankung,

von einem mittleren Wert von 1.99×10^4 integrierten cpm / 1000 Zellen bis zu 8.03×10^4 integrierten cpm / 1000 Zellen, in der allotransplantierten Gruppe auf, als in der Kontrollgruppe, mit einem Bereich von 2.07 bis 4.26×10^4 integrierten cpm/1000 Zellen. Auch hier sind die tatsächlich bei 10^5 eingesetzten Zellen gemessenen Impulse nur auf 10^3 Zellen umgerechnet, nicht aber für die Zellart korrigiert. Berücksichtigt man nur mononukleäre Konzentrate mit weniger als 3% Eosinophilen, ändert sich an der statistischen Aussage nichts.

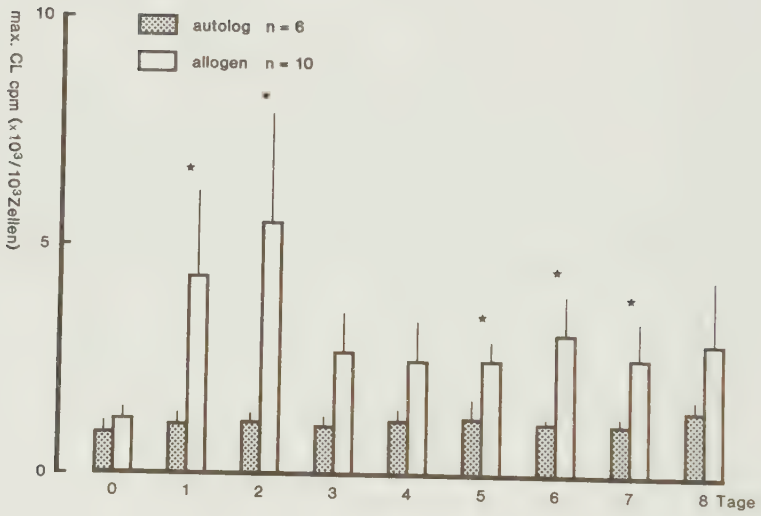


Abb.16 Luminolverstärkte Chemilumineszenz mononukleärer Zellen (Maxima)

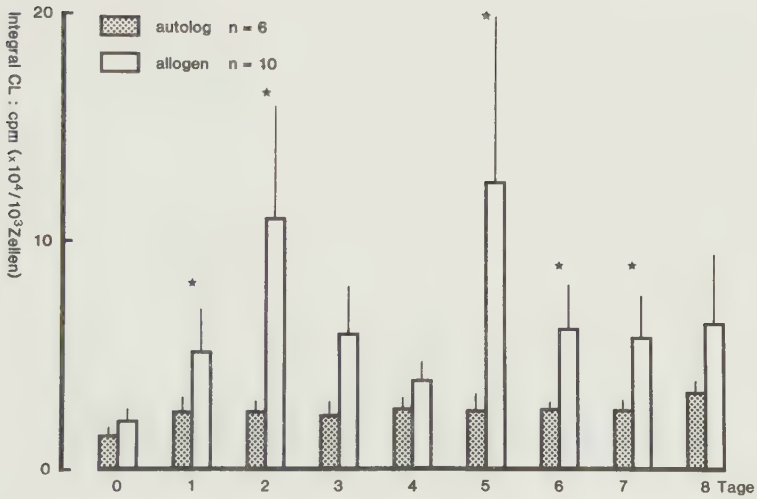


Abb.17 Luminolverstärkte Chemilumineszenz mononukleärer Zellen (Integrale)

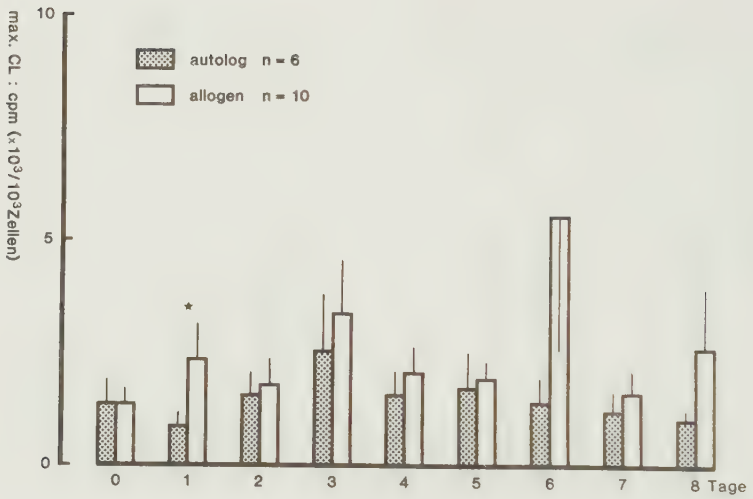


Abb.18 Lucigeninverstärkte Chemilumineszenz mononukleärer Zellen (Maxima)

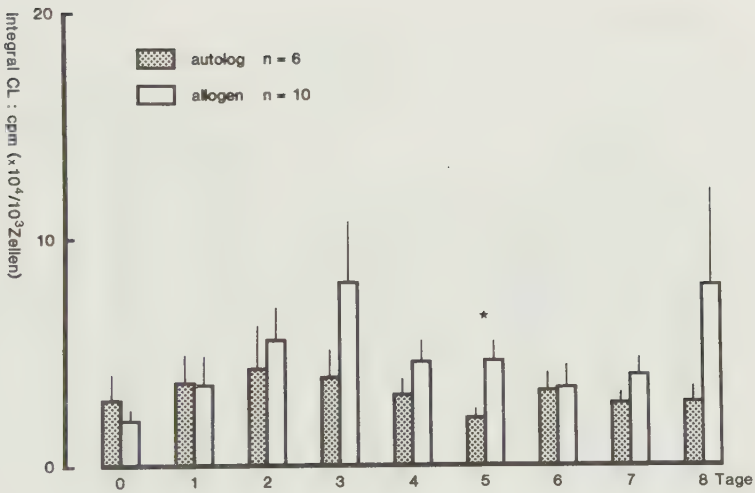


Abb.19 Lucigeninverstärkte Chemilumineszenz mononukleärer Zellen (Integrale)

d. Feinnadelaspirate

Im Weiteren wird auf die graphische Darstellung der Chemilumineszenzmaxima bei, wie oben gezeigt, weitgehend identischem Verlauf, zu Gunsten der Integrale verzichtet. Aus dem Tabellenanhang sind die Werte ersichtlich. Da eine Umrechnung der gemessenen Chemilumineszenz auf die in der Feinnadelbiopsie je enthaltenen Mono- oder Granulozyten ohne ihren relativen Anteil am entstandenen Signal differenzieren zu können nur spekulativen Charakter hat, wird nur diese gezeigt. Im Tabellenanhang findet sich der Versuch einer Umrechnung auf Chemilumineszenz / Granulozyten, der einzig zeigen kann, daß sich die statistisch gefundenen Unterschiede nicht allein auf Unterschiede in der Granulozytenzahl, als häufigster leuchtender Zellart, zurückführen lassen, sie bleiben nämlich gleich. In Abb.20 ist der relative Anteil von Granulozyten und in Abb.21 der relative Anteil von Monozyten an den 10^5 absolut zur jeweiligen Chemilumneszenzmessung eingesetzten Zellen mit den signifikanten Unterschieden rechte/allogene und allogene/autologe Niere gezeigt.

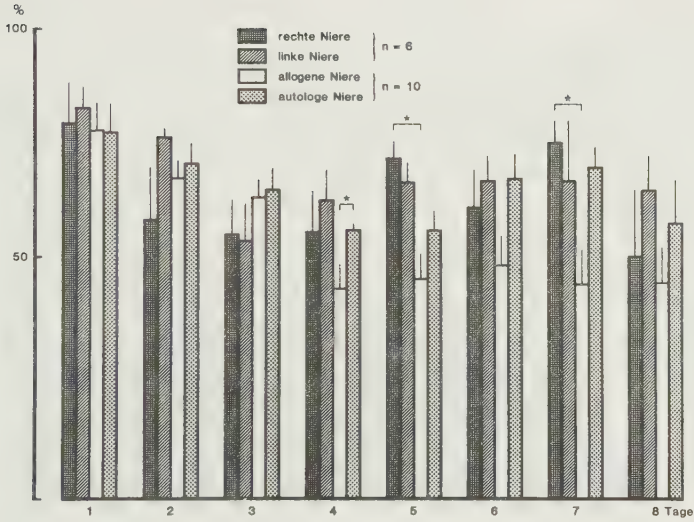


Abb.20 Prozentualer Anteil von Granulozyten in Feinnadelaspiraten (bezogen auf alle enthaltenen Zellen)

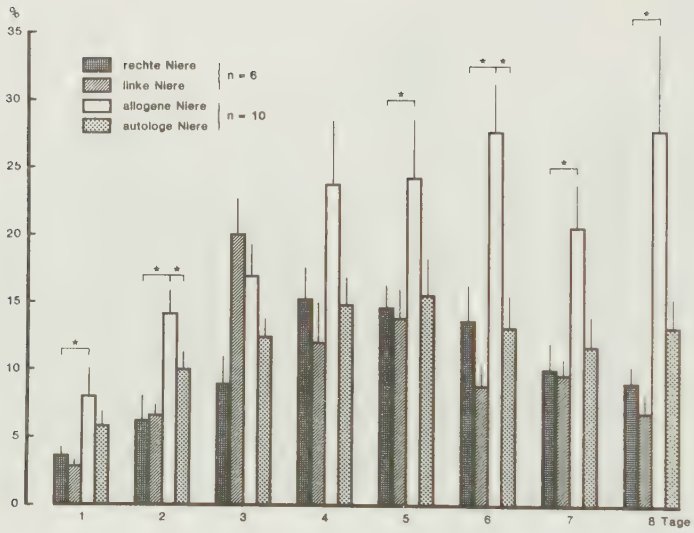


Abb.21 Prozentualer Anteil von Monozyten in Feinnadelaspiraten (wie Abb.21)

Luminol

Schon am 1. postoperativen Tag ist die Chemilumineszenzreaktivität (Abb.22) der aus allogenen Transplantaten gewonnenen Zellen signifikant gegenüber der aus autologen Nieren in der Kontrollgruppe erhöht, bleibt dann höher und überschreitet am 5., 6. und 7. Tag wieder die Signifikanzschwelle. Beim Vergleich der Chemilumineszenz aus autologen und allogenen Nieren im selben Tier fällt ein paralleler Verlauf auf. Eine ungleichzeitiger Anstieg der Reaktivität allogener Transplantate kann nicht nachgewiesen werden. Wie oben schon erwähnt, ergibt sich bei Umrechnung der Chemilumineszenz auf in der Biopsie enthaltene Granulozyten ein identisches Bild.

Lucigenin

Bei erheblich größerem Messfehler entspricht der Verlauf der lucigeninverstärkten Chemilumineszenz (Abb.23) aus Feinnadelaspiraten in der Tendenz der luminolverstärkten. Zu einem statistisch belegbaren Unterschied kommt es weder zwischen autologen und allogenen Nieren im gleichen Tier, noch zwischen den Versuchsgruppen.

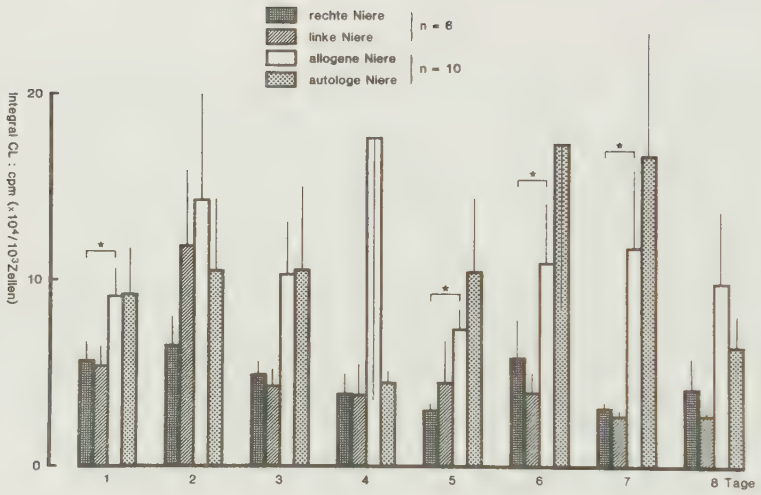


Abb.22 Luminolverstärkte Chemilumineszenz aus
Feinnadelaspiraten (Integrale) aus

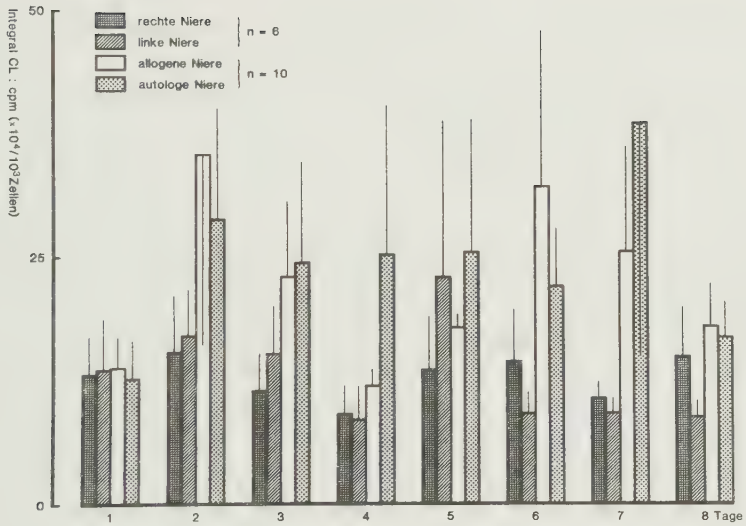


Abb.23 Lucigeninverstärkte Chemilumineszenz aus
Feinnadelaspiraten (Integrale)

D. Diskussion

1. Zu Material und Methoden

a. Modell und Versuchstiere

Der Hund wurde, neben seiner einfachen Handhabung und guten Kooperativität, als Versuchstier gewählt, weil zum Einen die Transplantationstechnik der beim Menschen ähnlich gehalten werden kann, zum Anderen die Abstoßungsreaktion ähnlich verläuft (17,170). Ein wesentlicher weiterer Vorteil besteht in der Möglichkeit, sowohl regelmäßig ausreichend Blut abnehmen zu können, als auch die Nierentransplantate komplikationslos täglich mit der Feinnadel punktieren zu können. Bei den hier verwendeten, nicht verwandten Mischlingshunden kann auf Grund des beim Hund dem Menschen ähnlichen Polymorphismus der Haupthistokompatibilitätsantigene von einem starken Abstoßungsmodell mit, wie auch unsere Feinnadelaspirationszytologiebefunde zeigen, relativ gleichförmigem Verlauf der akuten, hauptsächlich zellulären Abstoßung ausgegangen werden. Eine hyperakute Abstoßung wurde weder in dieser Serie noch in einer später am gleichen Modell durchgeführten Untersuchung gesehen (103). Eine der menschlichen ähnliche Chemilumineszenzreaktion zumindest von Granulozyten ist beim Hund nachgewiesen (7,134). Die beidseitige Nierentransplantation wurde durchgeführt, um gleichzeitig im selben Tier die Chemilumineszenzreaktivität ins autologe oder allogene Transplantat einwandernder Zellen untersuchen zu können. Angeregt wurde die Entwicklung dieses Modells durch die Arbeiten von Asher, Hoffman und Mitarbeitern (8,9), die bilateral implantierte Polyurethanschwämme verschiedenen Zellgehalts für ihre Untersuchungen vor allem über Lymphozytensensibilisierung und deren Bedeutung für die Zellrekrutierung ins Allotransplantat

verwendeten. Die Kontrollgruppe wurde beidseits autotransplantiert, um ischämischen Gewebeschaden, Dauer und Ausmaß des operativen Eingriffs möglichst mit der Versuchsgruppe identisch zu halten. Einziger Unterschied der beiden Gruppen, außer des zu untersuchenden Parameters (allogen/autolog), ist das Belassen einer nicht transplantierten Eigenniere bei der allotransplantierten Gruppe. Da jedoch Harnstoffwerte in beiden Gruppen recht stabil im Normbereich auch nach Transplantation blieben, dürfte dieser Unterschied für die Fragestellung keine Rolle spielen. Nachteil dieses Modells ist die Unmöglichkeit, bei belassener Eigenniere und autolog transplantierte Niere aus den Harnstoff- oder Kreatininwerten Aussagen über den Funktionszustand der jeweils einzelnen transplantierten Niere zu machen. Aufwendigere, nuklearmedizinische Verfahren zum Ermitteln der seitengetrenten Clearance standen für diese Arbeit nicht zur Verfügung. Ziel war ja auch nicht die Beschreibung der bereits gut dokumentierten Funktionsveränderungen der transplantierten Niere unter Abstoßung, sondern der Phagozytenchemilumineszenz. Es galt daher sowohl geeignete Kontrollen zu entwickeln, als auch den Einfluß möglichst vieler nicht fragespezifischer Parameter, wie zum Beispiel der Urämie, auszuschließen. Um das Funktionieren der autolog transplantierten Nieren in der Versuchsgruppe zu beweisen, wurden 3 Tiere am 8. postoperativen Tag relaparotomiert und sowohl die in situ verbliebene eigene Niere, als auch die abgestoßene allogene Niere entnommen. Diese Tiere wiesen in einem Beobachtungszeitraum von weiteren 2 Wochen normale Harnstoffwerte auf.

b. Feinnadelaspirationszytologie

Als invasives Verfahren zur Abstoßungsdiagnostik wurde die Feinnadelaspirationszytologie (FNAC) benützt. Sie ist in der Klinik eingeführt und korreliert bei geringer Komplikationsrate gut mit der histologischen Abstoßungsdiagnostik aus Stanzbiopsien (17,98,102). Die tägliche Wiederholbarkeit erlaubt eine Verlaufskontrolle der Abstoßung im Experiment, dabei fallen die möglichen Fehlerquellen, besonders Blutkontamination und eventuell nicht getroffene Biopsien, die wir durch Ausschluß aller Biopsien mit weniger als 5 Parenchymzellen auf 100 Leukozyten gering zu halten versuchten, wenig ins Gewicht. Eine morphometrische Quantifizierung zellulärer Infiltrate, wie etwa von Burdick et al. (30) an Stanzbiopsien durchgeführt, ist mit der FNAC allerdings nicht möglich. Auch bei Errechnung eines Quotienten aus dem Vergleich Leukozyten pro Erythrozyten im Aspirat und im peripheren Blut (97) ist letztlich nur eine graduiert qualitative Aussage und eine Biopsiequalitätskontrolle, die einfacher, wenn auch ungenauer, durch Ausschluß von parenchymzellarmen Aspiraten durchgeführt werden kann, möglich. Auf die Darstellung der Entwicklung von etwa monozytären, lymphozytären etc. Einzelinkrementen unter unbehandelter Nierentransplantat-abstoßung beim Hund wurde in dieser Arbeit verzichtet, da sie an anderer Stelle ausführlich beschrieben ist (22). Stattdessen wird eine Zusammenfassung mit Hilfe des addierten Gesamt- Corrected Increment gezeigt, wie sie auch in der Klinik zur Diagnose verwandt wird (17,81,82,98). Ein weiterer Vorteil der Feinnadelbiopsietechnik für vorliegende Untersuchung bestand in der täglichen ex vivo Gewinnbarkeit einer ausreichenden Zellzahl zur Chemilumineszenzmessung. Allerdings stand mit jeweils $0.5 - 2 \times 10^6$ Zellen nicht genug Material zur weiteren Separation zur Verfügung.

c. Chemilumineszenz

Die Messung der luminol - und lucigeninverstärkten Chemilumineszenz wurde in Anlehnung an bei Allen und DeChatelet et al. (2,3,4,5,45) beschriebene Methoden durchgeführt. Die meisten klinischen und experimentellen Studien über Veränderungen der Phagozytenchemilumineszenz bedienten sich bisher der 1976 von Allen und Loose eingeführten Verstärkersubstanz Luminol (e.c. 21,49,50,53,85). Luminol erhöht die relative Lichtausbeute der nativen Chemilumineszenz um das Vielfache und ermöglicht damit die Messung in kleinsten Zellmengen. Der vorgeschlagene Mechanismus der Chemilumineszenz durch Luminol beruht vereinfacht auf einer myeloperoxidaseabhängigen 'oxidativen' Di-Oxygenierung des elektronenreichen Pi-Ringes mit Photonenabgabe (5). Neben Produkten der membrangebundenen NADPH-Oxidase und der Myeloperoxidase scheinen auch reaktive Sauerstoffspezies aus dem Arachidonsäuremetabolismus an der Entstehung dieser Chemilumineszenz beteiligt (33). Wesentliche reaktive Produkte des respiratory burst für die Entstehung der luminolverstärkten Chemilumineszenz sind dabei Wasserstoffperoxid und HOCl, die Rolle von Superoxid ist zweifelhaft (28,156). Das von Luminol ausgesandte Licht hat eine Wellenlänge von 460 nm. Lucigenin dagegen, von Allen erst neuerlich eingeführt (3), sendet Photonen der Wellenlänge 527 nm aus, was für unser Meßsystem den Nachteil einer geringeren Empfindlichkeit der Photomultiplier im grünen Bereich hat. Als Anregungsmechanismus wird eine 'reduktive' Di-Oxygenierung diskutiert (5), die Lucigenin - Chemilumineszenz ist myeloperoxidaseunabhängig und mit Superoxiddismutase hemmbar. Als Substrat wird hauptsächlich das Superoxidanion vermutet. Auch ist Lucigenin großmolekularer (520.5 Dalton) als Luminol (177.2 Dalton) (42) und im Gegensatz zu diesem gut wasserlöslich. Luminol soll leichter intrazellulär diffundieren, während mit

Lucigenin wahrscheinlich nur extrazelluläre Vorgänge gemessen werden (5,42).

Angeichts der Unterschiede in Substratmuster und physikalischen Eigenschaften schien ein Vergleich beider Verstärkersubstanzen für die Fragestellung interessant. Leider konnten die vergleichenden Messungen nicht simultan durchgeführt werden, da nur ein Biolumat zur Verfügung stand. Der Zeitunterschied des Meßbeginns von 40' schränkt die Vergleichbarkeit erheblich ein.

Als einfach und schnell durchführbar bietet sich die Messung der Chemilumineszenz im Vollblut an. Um Gerinnung und Granulozytenaggregation vor allem bei den anschließenden Separationsschritten zu verhindern mußten wir im Hundemodell mit relativ hohen Heparindosierungen arbeiten (100 IU/ml). Während Wokalek (179) beim Menschen unter diesen Heparinkonzentrationen, allerdings im nur 1:5, im Gegensatz zu 1:50 in unseren Versuchen, verdünnten Vollblut eine erhebliche Reduktion der messbaren Chemilumineszenz findet, können wir in unserem Modell diesen Befund nicht bestätigen. Die von uns gewählte höhere Verdünnung folgt einem Vorschlag von Allen (6,135). Niedrigere Verdünnungen haben in den Augen ihrer Befürworter den Vorteil 'physiologischerer' Verhältnisse, sie nehmen dafür die Nachteile größerer messtechnischer Ungenauigkeit durch vor allem Hämoglobinquench (45,66,84,135), Serumproteine (66,94,137) und wechselnde Thrombozytenzahl (94) in Kauf.

Hat die Vollblutmessung den Vorteil der einfachen Durchführbarkeit, so hat, abgesehen von 'technischen' Fehlern, die Interpretation des aus ihr gewonnenen Signals den Nachteil durch mannigfaltige Einflüsse beinahe unmöglich zu sein. Serumbestandteile, wie Komplementfaktoren, Arachidonsäuremetaboliten, Hormone und andere, und Wechselwirkungen der Leukozyten untereinander können gleichzeitig das Ergebnis beeinflussen, ohne im Nachhinein unterschieden werden zu können. Zudem kann das Signal

verschiedener Phagozyten, etwa Granulozyten und Monozyten, nicht unterschieden werden, die Umrechnung auf cpm/PMN vernachlässigt den Anteil anderer Zellarten.

Es war daher naheliegend, auch in gereinigten Zellpopulationen zu messen. Zur Separation verwendeten wir die Dichtegradientenzentrifugation über Ficoll-Isopaque nach Boyum (27). Um eine Aggregation zu vermeiden und die Zellausbeute zu verbessern, verdünnten wir nach Vorversuchen das zu trennende Blut 1:10 in Hank'scher Lösung. Mit einem, ebenfalls nach Vorversuchen, modifizierten Gradienten (1.075g) erhielten wir in der Granulozytenfraktion mit >98% eine Reinheit, die der bei Boyum für den Menschen angegebenen entspricht. In den mononukleären Konzentraten gelang es uns bei Tieren mit Eosinophilie nicht, eine Eosinophilenverunreinigung zu vermeiden. Eine direkte Beziehung zwischen Messergebnis und Eosinophilenzahl fanden wir nicht. Im Tabellenanhang sind die prozentualen Anteile von Monozyten und Granulozyten (>99% Eosinophile) am mononukleären Konzentrat aufgeschlüsselt. Mit einer Vitalität von über 96% vor Chemilumineszenzmessung schien die Trennmethode ausreichend zellschonend. Ein Einfluß der Trennmethode auf die Chemilumineszenzreaktivität von Monozyten oder Granulozyten ist nicht beschrieben. Es finden sich in der Literatur jedoch Hinweise auf eine Beeinflussung der ATP-ase Aktivität (131), der C3b Rezeptordichte (58), der Superoxidproduktion (20) und der Membranpotentialantwort auf ein chemotaktisches Peptid, fMLP (147) von Granulozyten durch die Isolationsmethode. Einen Einfluß der hypotonen Lyse auf die Chemilumineszenz konnten wir in eigenen Vorversuchen nicht nachweisen. Eine Separationsmethode, die bei ausreichender Reinheit, Zellausbeute und Schnelligkeit, wegen der zeitabhängigen Vollblutmessung, keine der granulozytären und monozytären Funktionen beeinträchtigt, konnte nicht gefunden werden. Die Ficollseparation ist in der Chemilumineszenzliteratur eine gebräuchliche Methode

(33,41,42,80,137,138,139,156,160 u.a.).

Als Stimulus verwendeten wir mit autologem Serum vorbehandeltes, also opsoniertes Zymosan. Zymosan ist ein Homogenat aus Hefezellwänden, das in erster Linie Polysaccharide enthält. Es aktiviert den alternativen Komplementweg (86,90,130) und bindet bei Opsonierung C3b. Phagozytiert wird es zum Beispiel von Granulozyten (109) und Monozyten/Makrophagen (90). Rezeptoren für C3b, die als CR1, CR2 und CR3 bezeichnet werden, sind auf Erythrozyten, Monozyten/Makrophagen, Granulozyten, B-Lymphozyten, Glomerulumzellen und bestimmten T-Zellen nachgewiesen (48,57,59,60,121,141). Die Bindung an den Rezeptor scheint für Monozyten und Granulozyten sowohl das Phagozytose- als auch das respiratory burst Signal darzustellen. Unabhängig vom C3b Rezeptor ist auch ein trypsinempfindlicher Rezeptor für Aktivatoren des alternativen Komplementwegs (wie Zymosan) beschrieben (37,38,39,40), der bei Verwendung opsonierten Zymosans an der Chemilumineszenzaktivierung beteiligt sein dürfte. Auch scheint einer der Komplementrezeptoren (CR3) durch nicht opsoniertes Zymosan unter Umgehung der Komplementaktivierung besetzt werden zu können (141). Um einen Einfluß der Opsonierungsfähigkeit des jeweiligen gemessenen Blutes auszuschließen, verwendeten wir ausschließlich autolog voropsoniertes Zymosan. Mit der zur Opsonierung eingesetzten Zymosankonzentration von 12.5 mg/ml und einem zur Messung in ein Gesamtvolumen von 1ml eingesetzten Volumen von 50ul Zymosansuspension lagen wir im oberen linearen Bereich der Konzentrations-Wirkungs-Kurve. Zymosan ist schließlich ein bei Untersuchungen von Phagozytose und/oder respiratory burst häufig angewandter Stimulus (4,5,7,33,44,45,46,47,50,53,54,64,66,80,84,85,90,94,109,118,134,135,137,138,142,144,152,156,160,164,178,179). Im Gegensatz zu fMLP stimuliert Zymosan auch den respiratory burst von Hundegranulozyten (7,134,157).

2. Phagozytenfunktionen und Abstoßung

Phagozyten, darunter Granulozyten und Monozyten/Macrophagen, reagieren auf eine Anzahl von Stimuli mit einem extramitochondrialen Sauerstoffmehrverbrauch, einer Aktivierung des Hexosemonophosphatshunts und der NADPH-Oxidase, sowie Myeloperoxidase und des Arachidonsäuremetabolismus im sogenannten 'respiratory burst' (1,2,4,5,10,11,13,15,19,26,33,44,67,77,79,44,95, 99,111,115,122,127,129,150,151,153,161). Dabei werden extrazellulär, wie intrazellulär in das Phagolysosom, hochreaktive Sauerstoffspezies abgegeben: im wesentlichen Superoxid und Wasserstoffperoxid und durch Interaktion Hydroxylradikal und singlet oxygen, deren physiologische Bedeutung allerdings noch umstritten ist (Übersicht bei 11). Als Stimuli kommen sowohl Phagozytosestimulatoren - im vorliegenden Fall Zymosan-, Bakterien, Fc-Stücke von Immunglobulinen, einige Viren und Protozoen als auch chemotaktische Peptide, Lektine, Phorbolster und z.B. Calcium-Ionophoren in Frage.

Wesentliche physiologische Funktion dieses Phänomens dürfte in der Wirtsabwehr gegen Mikroorganismen liegen (11,52,114 u.a.), eine tumorizide Wirkung wird diskutiert (11,105), allerdings auch eine karzinogene (176). Ein zytotoxischer Effekt von reaktiven Sauerstoffspezies auf eukaryotes Gewebe ist beschrieben (55,63,78,91,124,136,174).

Wie schon eingangs erwähnt, entstehen bei diesem respiratory burst Photonen im sichtbaren Bereich, die als native Chemilumineszenz gemessen werden können. Mit Hilfe entsprechender Verstärkersubstanzen, hier Luminol und Lucigenin, kann die Empfindlichkeit der Messung um ein Vielfaches gesteigert werden. Registriert wird mit entsprechenden Photomultipliern die Photonenproduktion von Luminol und Lucigenin als Konsequenz deren Reaktion mit

aktiven Sauerstoffspezies (siehe Diskussion Material und Methoden). Auf die Substratspezifität der beiden Verstärkersubstanzen wurde bereits eingegangen. Da die Chemilumineszenzmessung eine relativ neue Methode der Quantifizierung des respiratory burst ist, muß in der folgenden Diskussion der möglichen Modulation von Phagozytenfunktionen durch an der Abstoßungsreaktion beteiligte Mediatoren häufig auf mit anderen Meßverfahren gewonnene Befunde zurückgegriffen werden.

Mononukleäre Phagozyten sind als langlebige, in Kultur haltbare und zur Differenzierung fähige Zellen bekannt (s.z.B.34), Granulozyten wurden jedoch als ausdifferenzierte Endformen noch bis vor kurzem keiner aktiven Veränderung ihrer Funktionen fähig gehalten. Durch den Nachweis von RNA- und Proteinsynthese durch Granelli-Piperno et al. (69) und der Modulierbarkeit der NADPH-Oxidase mittels LPS durch Guthrie et al. (73) ist diese Vorstellung wohl widerlegt und sind frühere, formal weniger sorgfältige Befunde bestätigt.

Aus einer schematischen Darstellung (Abb.24, entnommen 158,159) der unbehandelten Abstoßungsreaktion, die das heutige Wissen über die für die einzelnen Schritte der Transplantatabstoßung nötigen zellulären und humoralen Interaktionen zusammenfaßt, lassen sich folgende Mediatoren entnehmen, die eventuell einer Modulation der Neutrophilen- und Monozytenchemilumineszenz angeschuldigt werden können:

Makrophagenaktivierender Faktor oder MAF, möglicherweise identisch mit CSF (colony stimulating factor) (113), Interleukin 1 oder lymphocyte activating factor (LAF), Interleukin 2 oder T-cell growth factor (TCGF), und die Interferone, insbesondere Gammainterferon. Hinzu kommen die mit zunehmender Meßbarkeit immer ubiquitäreren Arachidonsäuremetaboliten und Komplementfaktoren, beide im Schema nicht aufgeführt.

A Unmodified allograft response

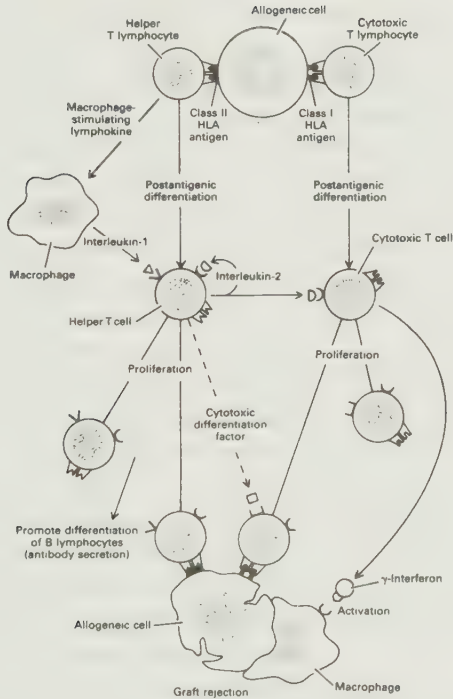


Abb.24 Schema der zellulären und humoralen Interaktionen bei der unbehandelten Abstoßungsreaktion nach T.B. Strom et al. (158,159)

Es sei angemerkt, daß hier nicht die Bedeutung von Granulozyten für den eigentlichen Abstoßungsvorgang diskutiert werden soll (siehe dazu z.B. 24,63, vor allem die hyperakute Abstoßung betreffend), oder auch die näherliegende, wenn auch im Detail ungeklärte Rolle von Monozyten/Makrophagen (Übersicht bei 108). Erörtert wird lediglich die Modulation von Phagozytenfunktionen, wie in dieser Arbeit als Veränderung der phagozytoseassoziierten Chemilumineszenzreaktivität gefunden, durch an der Abstoßung beteiligte Mediatoren immunkompetenter Zellen. Zur Klärung der darüber hinausgehend interessierenden Frage, ob etwa einer erhöhten oxidativen Reaktivität von Phagozyten eine pathophysiologische Funktion im Rahmen der Abstoßung zukommt, bieten vorliegende Untersuchungen keine Hinweise.

Ruth Lomnitzer und Mitarbeiter konnten 1977 zeigen, daß Überstände lektinstimulierter mononukleärer Zellen die in vitro phagozytäre Aktivität, die Hexosemonophosphatshuntaktivität (Glukoseoxidation), sowie die respiratory burst Aktivität (NBT - Reduktion) von Granulozyten steigern können (106). Von Cross und Lowell wurde gezeigt, daß solche lymphokinreichen Überstände auch die Bakterizidie von Granulozyten erhöhen (36). Vadas und Mitarbeiter (167) finden eine Steigerung der antikörpervermittelten Tumorzellyse, sowie der Phagozytose und Abtötung von candida albicans in Neutrophilen und Eosinophilen, die mit mononukleären Zellen oder konditioniertem Medium inkubiert waren. Die gefundenen Aktivitäten ließen sich auf CSF - ähnliche Moleküle zurückführen. Auch wird von Weisbart et al. (175) eine Erhöhung der Superoxidproduktion stimulierter Neutrophiler durch CSF aus T-Lymphozyten beschrieben. Eine Modulation des respiratory burst und der Chemilumineszenz von Neutrophilen durch T-Lymphozyten finden auch Niwa et al. (119). Interessanterweise wurde in dieser Arbeit keine Veränderung des respiratory burst von Monozyten durch gleiche

Inkubationsbedingungen gefunden. Eine Regulation der Myelopoese durch spezifische CSF's (alpha für Neutrophile, Monozyten und Eosinophile und beta vor allem für Neutrophile), die aus verschiedenen T-Zellklonen nach Antigenstimulation nachgewiesen werden konnten, postulieren Griffin, Meuer, Schlossman und Reinherz in einer kürzlich erschienenen Arbeit (72). Diese in vitro Ergebnisse ermöglichen eine attraktive Hypothese zur Erklärung der Regulation einer, wie in unserem Modell gefundenen Leukozytose, mit etwas verschobener oder gleichzeitiger Erhöhung der respiratory burst Kapazität bei chronischer Antigenstimulation durch ein allogenes Transplantat. Ein Zusammenhang zwischen Myelopoese und Entwicklung der respiratory burst Aktivität ist von Brown et al. (29) an myeloiden Leukämiezellen hergestellt worden. Induziert man chemisch die Ausdifferenzierung einer Promyelozytenlinie (HL-60), so kommt es zur Ausbildung von Membranpotentialantworten und Produktion reaktiver Sauerstoffspezies auf entsprechende Membranstimuli. Analog könnte eine Knochenmarkstimulation mit folgender Granulopoese auch einer erhöhten respiratory burst Kapazität der neu zirkulierenden Zellen assoziiert sein.

Über einen möglichen regulativen Einfluß von Interleukin 2 auf Monozyten/Makrophagen- oder Granulozytenchemilumineszenz liegen derzeit keine Befunde vor.

Weitere Kandidaten für eine Modulation der Neutrophilen- und Monozytenfunktionen sind die Interferone, vor allem das von Lymphozyten gebildete Gammainterferon (165). Gammainterferon aktiviert Makrophagen (117,123), sowohl deren Zytotoxizität, als auch ihren oxidativen Metabolismus, und Neutrophile (165,166). Die mögliche Identität von MAF und Gammainterferon (s.z.B. 117) läßt annehmen, daß die wirksame Substanz älterer Befunde der Monozyten/Makrophagenaktivierung Gammainterferon war. Coleman et al. (35) beschrieben einen niedrigmolekularen Aktivator der Monozytenphagozytose aus

Thymuslymphozyten. Ein weiteres, nicht genau definiertes Lymphokin, das die C3b-Rezeptor abhängige Phagozytose von Makrophagen anregt, wird von Griffin und Mullinax (71) nachgewiesen.

Chemotaktische Faktoren wie C5a, fMLP oder Leukotrien B₄ (LTB₄) können die Aktivität der respiratory burst Enzyme von Granulozyten erhöhen (18,65). LTB₄, als bekannter Stimulator der oxidativen Antwort von Neutrophilen, ist allerdings m. W. bislang unter Abstoßung nicht gemessen worden. Ein anderer Arachidonsäuremetabolit, Prostaglandin E₂, scheint vermehrt in abstoßenden Nieren gebildet zu werden, zusammen mit Thromboxan B₂, während Prostaglandin Fl α unverändert bleibt (162). Prostaglandin E₂ ist aber ein eher hemmender Einfluß auf die oxidative Antwort von Monozyten und Neutrophilen zugeschrieben (25,112,146). Denkbar wäre eine Herunterregulierung der etwa durch Il-1, Gammainterferon und andere Mediatoren während Abstoßung stimulierten respiratory burst Aktivität von Phagozyten durch hemmende Substanzen wie PG E₂, im Sinn eines feedback-Mechanismus. Der nie signifikante Unterschied zwischen Phagozytenchemilumineszenz in allogenen und autologen transplantierten Niere im selben Tier fände so eine spekulative Erklärung:

Die Modulation der respiratory burst Aktivität ist durch lokal freigesetzte Mediatoren der Immunantwort bedingt, wirkt sich aber dort durch gleichzeitig in der allogenen Niere steigende PG E₂ Spiegel weniger aus als systemisch, bzw. in der kontralateralen autologen Niere. Eine andere mögliche Interpretation dieses Befundes ist eine systemische Antwort auf die lokale Immunreaktion, z.B. im Sinne einer Myelopoieseregulation, wie oben erwähnt, durch Produkte antigenstimulierter, rezirkulierender T-Zellen.

3. Chemilumineszenz und Abstoßung

Zur Chemilumineszenzmessung nach Nierentransplantation liegen folgende Untersuchungen vor:

Heberer und Mitarbeiter berichten im Abstrakt eines Vortrags 1981 (83) über eine Assoziation von erhöhter zymosaninduzierter und luminolverstärkter Chemilumineszenz im verdünnten Vollblut mit Abstoßungskrisen bei nierentransplantierten Patienten. Weder über das Meßverfahren, noch über die verwandte Abstoßungsdiagnostik oder über irgendwelche gemessenen Werte finden sich Angaben. Im Abstrakt eines 1985 gehaltenen Vortrags (64) beschreibt die gleiche Arbeitsgruppe in einer prospektiven Studie eine Assoziation einer über vorherige doppelte Probemessungen zweifach erhöhten luminolverstärkten Chemilumineszenzreaktivität im Vollblut mit klinisch diagnostizierter Abstoßung in 9 von 10 Abstoßungskrisen bei Nierentransplantierten. 6 falsch positive und zwei falsch negative Voraussagen nach diesem Kriterium schränken den prädiktiven Wert einer auf Chemilumineszenzmessung beruhenden Diagnose der Abstoßung auf 60% sehr ein. Der geringe prädiktive Wert einer zweifachen Chemilumineszenzerhöhung im Vollblut, den die Baseler Gruppe findet, läßt sich bei allen methodischen Unterschieden gut mit unseren Ergebnissen vereinbaren, findet sich doch bei Messung der luminolverstärkten Chemilumineszenz im verdünnten Vollblut in unserem Modell nie eine statistisch signifikante Erhöhung über die autologe Kontrollgruppe, bei Anstiegen, die das Zweifache der Ausgangswerte auch übersteigen.

Von Rush und Mitarbeitern wurde 1984 die Immunglobulin(IgG)-Aggregat- und die Zymosan-induzierte luminolverstärkte Chemilumineszenz von mononukleären Zellen und Granulozyten nierentransplantiierter Patienten untersucht (142). Beim Vergleich mit einer Kontrollgruppe zeigten

mononukleäre Zellen transplanterter und immunsupprimierter Patienten eine erhöhte IgG-induzierte Chemilumineszenz. Die zymosaninduzierte CL und PMN CL war nicht unterschieden. Ein von den Autoren gezogener Rückschluß auf die relative Fc/C3b-Rezeptordichte auf den untersuchten Zellen aus deren Chemilumineszenzantwort ist völlig unhaltbar (siehe auch Diskussion zu Material und Methoden, Zymosan). Es wird versucht eine Zunahme des Verhältnisses IgG - induzierter zu zymosaninduzierter Chemilumineszenz mit guter Transplantatfunktion zu korrelieren. Eine Korrelation der gefundenen Werte mit Abstoßungskrisen, oder etwa in der Differentialdiagnose bei viralen Erkrankungen ist nicht gezeigt. Nichtsdestotrotz bestätigt auch diese Arbeit, daß die gemessenen Chemilumineszenzwerte unter basaler Immunsuppression ungefähr den von Normalpatienten entsprechen. Auch Cyclosporin A scheint die Neutrophilenfunktionen nicht zu beeinträchtigen, wie Janco und English gezeigt haben (89).

Eine weitere Veröffentlichung beschäftigt sich mit der luminolverstärkten Chemilumineszenz von Nierentransplantat - infiltrierenden Zellen bei Patienten (47). Eine erhöhte Chemilumineszenzreaktivität phagozytischer Zellen aus Feinnadelaspiraten und peripherem Blut wird mit Kreatininwerten über 150 μM assoziiert. Die native Chemilumineszenz unter Luminolverstärkung und die durch Latex - Partikel, Zymosan, Phorbolmyristatazetat und Concanavalin A stimulierte Chemilumineszenz wird gezeigt. Leider wird nur eine Patientengruppe mit Kreatininwerten $\leq 150 \mu\text{M}$ mit einer zweiten mit Werten über 150 μM verglichen, und die Ergebnisse der Chemilumineszenzmessung nicht mit histologisch oder zytologisch diagnostizierter Abstoßung oder den anderen Differentialdiagnosen der eingeschränkten Nierenfunktion korreliert. Geht man davon aus, daß in der Patientengruppe mit erhöhten Kreatininwerten auch Abstoßungskrisen mit enthalten sind, lassen sich die Ergebnisse mit unseren

vereinbaren. Zusätzlich fehlt allerdings jede genaue Angabe zum Meßzeitpunkt, eine Einteilung der Ergebnisse in solche bis zwei Monate nach Transplantation und andere 2-6 Monate nach Transplantation, scheint, berücksichtigt man die in unseren Versuchen gefundene Kinetik der Chemilumineszenzreaktivitätsveränderungen, wenig sinnvoll.

Ergänzend zu der von uns gezeigten Assoziation einer erhöhten luminolverstärkten Chemilumneszenz von Monozyten und Granulozyten unter fortgeschrittener Nierentransplantatabstoßung sei eine Beobachtung von Solberg et al. erwähnt, der eine gesteigerte oder normale granulozytäre Chemilumineszenzreaktivität im Blut von Patienten mit bakteriellen Infektionen, eine eher reduzierte bei viralen Erkrankungen findet (152). Sollten sich diese Befunde am immunsupprimierten Patienten bestätigen, könnten sie eine Hilfe in der, wie eingangs erwähnt sehr wichtigen, Differentialdiagnose Abstoßung - Viruserkrankung bedeuten.

4. Zusammenfassung der Ergebnisse und Schlußfolgerungen

Zusammenfassend lassen sich die eingangs gestellten Fragen wie folgt beantworten:

Am Modell der allogenen und autologen Nierentransplantation am Hund ohne immunsuppressive Behandlung konnte erstmals gezeigt werden:

- a. Die luminol-, sowie die lucigeninverstärkte, zymosaninduzierte Chemilumineszenz im peripheren Vollblut ist während der fortgeschrittenen Abstoßung zwar erhöht, jedoch nie so, daß sie sich signifikant von der Kontrolle unterscheidet.
- b. Die luminolverstärkte Chemilumineszenzreaktivität separierter peripherer Granulozyten ist in allotransplantierten Tieren während der späten zellulären Abstoßung signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht. Die lucigeninverstärkte Chemilumineszenz ist, bei unter unseren Meßbedingungen größeren Schwankungen, am 2. und 3. postoperativen Tag, und dann wieder am 7. Tag signifikant erhöht.
- c. Die luminolverstärkte Chemilumineszenz peripherer mononukleärer Zellen der allotransplantierten Gruppe ist zu einem sehr frühen Zeitpunkt (Tag 1 post op.) und zum Zeitpunkt der maximalen zellulären Infiltration (Tag 5-7) deutlich signifikant höher als die der autologen Tiere. Hier sind die postoperativen Schwankungen in der Kontrollgruppe besonders gering. Die lucigeninverstärkte Chemilumineszenz der selben Zellen zeigt keine so deutlich unterschiedenen Verläufe, möglicherweise, wie oben erwähnt, meßtechnisch bedingt.
- d. Die Chemilumineszenz von Phagozyten aus den Feinnadelbiopsien ist in der allogenen Gruppe am 1. postoperativen Tag und dann wieder vom 5.-8. Tag, zeitlich koinzidierend mit der späten Abstoßungsreaktion, unter Luminolverstärkung signifikant erhöht. Dabei sind auch

Phagozyten aus den autologen Nieren in der allogenen Gruppe, verglichen mit solchen aus autologen Transplantaten der Kontrollgruppe, vermehrt stimulierbar und unterscheiden sich nie signifikant von denen aus den allogenen Nieren. Dieses Phänomen erlaubt zumindest zwei Auslegungen:

1. Die Aktivierung der Phagozyten erfolgt systemisch, etwa im Knochenmark oder in der Zirkulation, beispielsweise durch rezirkulierende T-Zellen und deren Produkte. Die die Transplantate infiltrierenden Zellen sind von vorneherein in abstoßenden Tieren aktivierter, als in autologen Kontrollen.

2. Die Modulation der Phagozytenreaktivität erfolgt lokal im allogenen Transplantat und wird durch rezirkulierende Phagozyten auch systemisch und in der autologen Niere messbar. Durch gleichzeitig im abstoßenden Organ gebildete kurzlebige hemmende Mediatoren, wie PG E₂, kommt es trotzdem zu keinem Unterschied zwischen autologen und allogenen Transplantaten in der allogenen Gruppe.

Natürlich sind beide Interpretationen nicht wechselseitig exklusiv.

Mißt man mit Lucigeninverstärkung, lassen sich die, im Übrigen ähnlich verlaufenden Erhöhungen der Chemilumineszenz in Transplantaten der allogenen Gruppe statistisch nicht belegen.

Folgende Schlußfolgerungen lassen sich aus den Befunden, vor allem hinsichtlich ihrer möglichen diagnostischen Anwendbarkeit, immer mit der Einschränkung des nicht immunsupprimierten Tiermodells, ziehen:

- a. Die Chemilumineszenzmessung im Vollblut zeigt keine genügend mit der Abstoßungsreaktion verknüpfbaren Änderungen, daß man differentialdiagnostische Erwartungen in sie setzen dürfte.
- b. Die zymosaninduzierte und luminolverstärkte Chemilumineszenz separierter Granulozyten zeigt eine Erhöhung zu einem relativ späten Zeitpunkt der Abstoßung. Sie hätte also, verglichen mit invasiver Diagnostik, konfirmativen Charakter. Eine Voraussage über eine beginnende Abstoßung ist damit wahrscheinlich nicht zu erwarten.
- c. Auch die Monozytenchemilumineszenz (in unseren Versuchen mit Luminolverstärkung) ist bei der fortgeschrittenen Abstoßung erhöht. Ob die frühere, postoperative Erhöhung in der allogenen Gruppe unserer Versuche sich in ähnlicher Weise beim Patienten zum Zeitpunkt der gerade einsetzenden Abstoßungsreaktion verifizieren läßt, bleibt abzuwarten. Jedenfalls geben die geringen Streuungen der Meßwerte in der Kontrollgruppe am ehesten Anlaß zur Hoffnung auf eine diagnostische Einsetzbarkeit.
- d. Die Messung der Chemilumineszenz aus der Feinnadelbiopsie läßt, wie oben diskutiert, Schlüsse auf den Ort der Entstehung dieser respiratory burst Aktivitäten zu. Zur Abstoßungsdiagnose trägt sie in unserem Modell nicht bei, es bleibt zu untersuchen, ob sich in Transplantaten Infiltrate unterschiedlicher Genese (Abstoßung, Ciclosporintoxizität, Virusinfektion) auch hinsichtlich der Chemilumineszenz unterschiedlich verhalten.
- e. Verschiedene Erklärungen der Unterschiede zwischen

luminol- und lucigeninverstärkter Chemilumineszenzmessung sind oben diskutiert. Eine endgültige Aussage über die mögliche Wertigkeit der lucigeninverstärkten Chemilumineszenzmessung läßt sich meines Erachtens aus den erwähnten Gründen nicht treffen. In unseren Händen war sie mit durchwegs höheren Schwankungen behaftet, und es konnte keine Zuordnung eindeutiger Verläufe zur Abstoßungsreaktion bewiesen werden.

E. Zusammenfassung

An beidseitig autolog und an einseitig autolog, gegenseitig allogenen nierentransplantierten, nicht immunsupprimierten Mischlingshunden wurde über die Dauer der Abstoßung allogener Transplantate (8 Tage) die zymosaninduzierte, luminol- und lucigeninverstärkte Chemilumineszenz von :

- a. Phagozyten im peripheren Vollblut,
- b. separierten Granulozyten aus dem peripheren Blut,
- c. separierten mononukleären Zellen aus dem peripheren Blut und
- d. Phagozyten in Feinnadelaspiraten täglich gemessen.

Als invasive Methode der Abstoßungsdiagnostik diente die Feinnadelaspirationszytologie. Konnte mit ihr eine Zunahme immunkompetenter Zellen in allogenen Transplantaten, verglichen mit peripherem Blut, ab dem zweiten postoperativen Tag, mit einem Höhepunkt der zellulären Abstoßung um den siebten Tag, gezeigt werden, so erbrachten die Chemilumineszenzmessungen folgende Ergebnisse:

- a. Im Vollblut war weder die lucigenin- , noch die luminolverstärkte Chemilumineszenz in der allogenen transplantierten Gruppe während Abstoßung von der in der autolog transplantierten statistisch unterschieden.
- b. Die Chemilumineszenzreaktivität separierter Granulozyten war mit Luminolverstärkung während der fortgeschrittenen Abstoßungsreaktion (Tag 6-7) signifikant erhöht. Mit Lucigeninverstärkung lag sie, bei inkonsistenteren Werten, am 2., 3. und 7. postoperativen Tag in der allogenen Gruppe signifikant über der der autologen.
- c. Die luminolverstärkte Chemilumineszenz mononukleärer Zellen der allogenen transplantierten Tiere lag am 1. und 5. bis 7. Tag nach Operation deutlich signifikant über der der autolog transplantierten. Die Schwankungen der Meßergebnisse

waren hier in der Kontrollgruppe relativ am geringsten. Die lucigeninverstärkte Chemilumineszenz erwies bei ähnlichem Verlauf keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Versuchsgruppen.

d. Die luminolverstärkte Chemilumineszenz von Phagozyten aus Feinnadelaspiraten war am 1. und 5.-6. postoperativen Tag in allogenen und autologen Transplantaten der allogenen Gruppe über die autologen der Kontrollgruppe erhöht. Ein Unterschied zwischen allogenen und autologen Transplantaten im gleichen Tier war statistisch nicht belegbar. Die lucigeninverstärkte Chemilumineszenz zeigte bei ähnlichem Verlauf größere Schwankungen, die Anstiege in der allogenen Gruppe erreichten das gewählte Signifikanzniveau nicht.

Mit diesen Befunden ist erstmals eine Modulation der Chemilumineszenz von Phagozyten aus dem peripheren Blut sowie aus Feinnadelaspiraten bei unbehandelter Nierentransplantatabstoßung am Hund nachgewiesen.

Diagnostische Verwendung am immunsupprimierten Patienten könnte möglicherweise die Messung der Granulozytenchemilumineszenz, mit einem allerdings eher konfirmatorischen Charakter, dank des späten Eintretens ihrer Erhöhung, und der Chemilumineszenz mononukleärer Zellen finden. Eine Validierung muß Studien am Patienten überlassen bleiben.

F. Tabellenanhang

1. Absolute Leukozytenzahlen im peripheren Blut

	0	1	2	3	4	5	6	7	8
ag									
enکو									
allo	12.7 $\pm$ 1.3	30.2 $\pm$ 2.5	22.0 $\pm$ 1.7	18.7 $\pm$ 2.2	17.2 $\pm$ 1.8	17.7 $\pm$ 1.5	17.7 $\pm$ 1.4	22.0 $\pm$ 1.8	18.7 $\pm$ 1.6
auto	11.7 $\pm$ 1.4	29.6 $\pm$ 1.8	22.8 $\pm$ 2.5	15.9 $\pm$ 2.4	14.4 $\pm$ 1.6	12.6 $\pm$ 1.5	12.8 $\pm$ 0.7	12.7 $\pm$ 1.1	15.5 $\pm$ 2.0
allo	9.5 $\pm$ 1.0	27.2 $\pm$ 2.4	18.3 $\pm$ 1.6	14.1 $\pm$ 1.7	13.2 $\pm$ 1.6	14.3 $\pm$ 1.2	14.1 $\pm$ 1.1	17.2 $\pm$ 1.7	14.5 $\pm$ 1.4
auto	9.4 $\pm$ 1.4	27.4 $\pm$ 1.8	19.5 $\pm$ 2.5	12.4 $\pm$ 2.4	10.5 $\pm$ 1.5	9.8 $\pm$ 1.5	8.2 $\pm$ 0.6	9.9 $\pm$ 1.4	11.4 $\pm$ 1.5
allo	2.1 $\pm$ 0.4	1.4 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.4	1.9 $\pm$ 0.4	2.0 $\pm$ 0.4	1.7 $\pm$ 0.3	2.0 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.4	1.7 $\pm$ 0.4
auto	1.4 $\pm$ 0.2	1.1 $\pm$ 0.3	1.4 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.4	1.8 $\pm$ 0.3	1.4 $\pm$ 0.4	1.7 $\pm$ 0.3	1.5 $\pm$ 0.1	2.7 $\pm$ 1.0
allo	2.8 $\pm$ 0.6	2.1 $\pm$ 0.4	3.1 $\pm$ 1.1	2.7 $\pm$ 0.5	2.7 $\pm$ 0.7	2.4 $\pm$ 0.5	4.3 $\pm$ 0.9	3.5 $\pm$ 0.6	1.9 $\pm$ 0.4
auto	2.2 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.5	3.0 $\pm$ 0.6	3.0 $\pm$ 1.0	2.0 $\pm$ 0.6	1.3 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.5	1.4 $\pm$ 0.3	3.8 $\pm$ 2.2
allo	1.2 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.5	1.8 $\pm$ 0.5	2.5 $\pm$ 0.4	1.9 $\pm$ 0.3	1.6 $\pm$ 0.3	1.6 $\pm$ 0.3	2.6 $\pm$ 0.5	2.5 $\pm$ 0.4
auto	1.1 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.4	1.2 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.3	1.5 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.1

llo = allogen transplantierte Gruppe
 utc = autolog transplantierte Gruppe

enko = Leukozyten x 10³/ul, PMN = Granulozyten x 10³/ul, Ly = Lymphozyten x 10³/ul
 .Ly. = Lymphoblasten und Prälymphoblast. x10²/ul, Mono = Monozyten x 10³/ul

2. Prozentuale Zellverteilung mononukleärer Konzentrate

Tag	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Mono	allo 23+4	48+3	40+7	48+5	37+5	27+4	27+6	33+6	31+5
	auto 23+3	40+4	36+5	51+10	51+9	41+10	31+3	30+10	31+5
2MN	allo 9+2	5+3	8+5	9+4	9+3	14+6	8+4	7+5	9+5
	auto 14+6	2+1	2+1	6+4	6+4	6+3	10+6	6+2	9+4

allo = allogen transplantierte Gruppe
 auto = autolog transplantierte Gruppe

mono = Monozyten
 MN = Granulozyten (davon über 99% Eosinophile)

3. Zellverteilung in Feinnadelbiopsien

	1	2	3	4	5	6	7	8
re	79.8 $\pm$ 8.7	59.4 $\pm$ 11	56.3 $\pm$ 7.7	59.6 $\pm$ 9.0	72.6 $\pm$ 3.5	62.2 $\pm$ 8.1	76.0 $\pm$ 4.8	51.6 $\pm$ 15
li	83.3 $\pm$ 4.6	77.0 $\pm$ 2.2	54.8 $\pm$ 8.0	63.6 $\pm$ 6.7	67.5 $\pm$ 4.2	67.8 $\pm$ 5.7	67.6 $\pm$ 13	65.8 $\pm$ 7.6
al	78.4 $\pm$ 5.8	58.3 $\pm$ 4.2	64.2 $\pm$ 3.8	44.8 $\pm$ 5.3	46.8 $\pm$ 5.5	49.7 $\pm$ 6.5	45.6 $\pm$ 7.8	46.0 $\pm$ 7.7
au	78.0 $\pm$ 6.3	71.4 $\pm$ 4.3	65.9 $\pm$ 4.7	72.3 $\pm$ 1.4	57.3 $\pm$ 6.2	68.2 $\pm$ 5.2	70.6 $\pm$ 4.5	58.8 $\pm$ 9.6
re	3.6 $\pm$ 0.7	6.2 $\pm$ 1.9	9.0 $\pm$ 2.0	15.2 $\pm$ 2.4	14.6 $\pm$ 1.7	13.6 $\pm$ 2.6	10.0 $\pm$ 2.0	9.0 $\pm$ 1.3
li	2.8 $\pm$ 0.5	6.6 $\pm$ 0.8	20.0 $\pm$ 2.7	12.0 $\pm$ 3.0	13.8 $\pm$ 2.2	8.8 $\pm$ 1.7	9.6 $\pm$ 1.2	6.8 $\pm$ 1.2
al	8.0 $\pm$ 2.1	14.1 $\pm$ 1.8	16.9 $\pm$ 2.4	23.7 $\pm$ 4.7	24.2 $\pm$ 4.4	27.6 $\pm$ 3.7	20.5 $\pm$ 3.2	27.6 $\pm$ 7.2
au	5.8 $\pm$ 1.1	10.0 $\pm$ 1.3	12.4 $\pm$ 1.4	14.8 $\pm$ 2.1	15.5 $\pm$ 2.7	13.1 $\pm$ 2.4	11.7 $\pm$ 2.2	13.1 $\pm$ 2.1

= rechte und linke Niere in der autologen Gruppe (n = 6)

= allogene und autologe Niere in der allogenen Gruppe (n = 10)

= Granulozyten in Prozent der Gesamtzellzahl

= Monozyten in Prozent der Gesamtzellzahl

4. Chemilumineszenz im peripheren Vollblut

Tag	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Lum	al	1.22 $\pm$ 0.2	1.99 $\pm$ 0.5	3.41 $\pm$ 0.9	3.05 $\pm$ 0.8	5.44 $\pm$ 2.6	3.33 $\pm$ 1.0	5.06 $\pm$ 1.6	4.18 $\pm$ 1.4	4.06 $\pm$ 1.6
	au	1.72 $\pm$ 0.9	1.04 $\pm$ 0.2	3.22 $\pm$ 1.3	2.31 $\pm$ 0.5	1.69 $\pm$ 0.4	1.56 $\pm$ 0.3	2.32 $\pm$ 0.7	2.43 $\pm$ 0.8	2.63 $\pm$ 0.9
	al	3.14 $\pm$ 0.6	4.83 $\pm$ 1.3	7.98 $\pm$ 2.1	6.78 $\pm$ 1.7	9.46 $\pm$ 4.6	8.37 $\pm$ 2.9	11.2 $\pm$ 3.6	9.48 $\pm$ 3.2	8.91 $\pm$ 3.4
	au	3.58 $\pm$ 1.9	2.25 $\pm$ 0.5	6.36 $\pm$ 2.4	4.87 $\pm$ 1.0	3.51 $\pm$ 0.7	3.33 $\pm$ 0.5	5.90 $\pm$ 2.2	5.20 $\pm$ 1.9	5.52 $\pm$ 2.0
Max	al	5.00 $\pm$ 1.3	8.10 $\pm$ 2.2	12.5 $\pm$ 4.0	9.74 $\pm$ 3.1	9.39 $\pm$ 3.7	14.4 $\pm$ 6.9	15.4 $\pm$ 6.8	18.0 $\pm$ 8.0	15.2 $\pm$ 6.7
	au	3.10 $\pm$ 1.1	3.40 $\pm$ 1.2	5.90 $\pm$ 1.4	5.20 $\pm$ 1.8	6.10 $\pm$ 2.2	5.80 $\pm$ 1.8	7.00 $\pm$ 2.4	7.80 $\pm$ 2.6	7.50 $\pm$ 2.7
Luc	al	11.2 $\pm$ 3.6	11.2 $\pm$ 1.1	37.3 $\pm$ 12	21.7 $\pm$ 6.1	19.1 $\pm$ 4.5	23.9 $\pm$ 11	33.4 $\pm$ 15	55.2 $\pm$ 25	47.4 $\pm$ 21
	au	7.69 $\pm$ 2.4	10.3 $\pm$ 3.7	16.4 $\pm$ 4.2	15.5 $\pm$ 5.1	16.6 $\pm$ 5.6	16.1 $\pm$ 4.7	19.7 $\pm$ 6.1	20.2 $\pm$ 6.5	19.4 $\pm$ 5.7

= Luminol und Lucigenin

= Chemilumineszenzmaxima in cpm x 10³/1000 Granulozyten und Integrale in cpm x 10⁴/1000 Granulozyten

= allogene und autologe Gruppe

5. Chemilumineszenz von separierten Granulozyten

Tag	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Max	al	2.22±0.4	7.49±1.7	15.4±4.9	9.75±3.5	14.4±7.8	8.38±1.8	16.3±5.3	14.6±6.6	11.3±4.3
	au	2.47±1.0	4.71±1.0	11.7±4.6	6.56±2.4	3.79±1.2	3.39±1.0	4.87±1.6	3.44±0.7	4.23±1.4
Int	al	7.51±2.0	15.5±4.1	33.8±11	21.4±7.8	27.5±17	19.9±4.7	37.2±12	31.7±14	25.4±10
	au	4.84±1.6	10.2±1.9	21.7±8.1	13.1±5.0	7.84±2.3	7.2±2.0	11.0±4.0	6.80±1.4	8.25±2.5
Max	al	6.24±1.4	8.38±1.8	23.1±6.9	13.9±4.3	14.0±5.0	18.1±5.6	22.7±9.8	26.0±11	17.4±7.2
	au	3.00±0.9	5.97±1.7	8.50±2.3	5.48±2.2	5.97±1.3	6.90±2.0	8.63±2.2	6.17±1.2	9.25±3.9
Int	al	31.2±16	20.8±3.3	63.8±18	29.0±8.1	27.2±8.6	38.6±14	34.4±11	74.0±30	51.3±22
	au	8.69±2.6	16.8±4.7	22.7±6.4	14.6±5.3	16.0±3.2	18.8±5.2	20.8±5.5	17.4±3.1	20.6±6.0

69

= Luminol und Lucigenin

= Maxima in $\text{cpm} \times 10^3 / 1000$ Zellen und Integrale in $\text{cpm} \times 10^4 / 1000$ Zellen

= allogene und autologe Gruppe

6. Chemilumineszenz mononukleärer Zellen

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Max	al	1.17±0.3	4.03±1.9	5.43±2.5	2.65±0.9	2.37±0.9	2.48±0.5	3.06±0.8	2.54±0.8	2.88±1.4
	au	0.88±0.3	1.10±0.2	1.12±0.2	1.05±0.2	1.18±0.2	1.23±0.4	1.12±0.1	1.09±0.2	1.42±0.2
Int	al	2.05±0.6	5.90±1.9	11.0±5.0	5.89±2.1	3.86±0.9	12.6±7.4	6.14±2.0	5.77±1.9	6.34±3.1
	au	1.43±0.4	2.46±0.7	2.48±0.5	2.32±0.6	2.60±0.5	2.52±0.7	2.64±0.3	2.56±0.5	3.32±0.5
Max	al	1.32±0.3	2.33±0.8	1.76±0.6	3.35±1.2	2.03±0.6	1.90±0.4	2.52±3.0	1.58±0.5	2.58±1.3
	au	1.32±0.6	0.82±0.3	1.54±0.5	2.51±1.3	1.54±0.5	1.70±0.8	1.39±0.5	1.18±0.4	1.00±0.2
Int	al	1.99±0.5	3.54±1.2	5.52±1.9	8.03±2.8	4.53±1.0	4.60±0.9	3.38±1.0	3.97±0.8	7.94±4.3
	au	2.83±1.2	3.65±1.2	4.25±1.5	3.89±1.2	3.10±0.7	2.07±0.4	3.30±0.8	2.71±0.4	2.79±0.6

= Luminol und Lucigenin

= Maxima in cpm x 10³/1000 Zellen und Integrale in cpm x 10⁴/1000 Zellen

= allogene und autologe Gruppe

7. Chemilumineszenz aus Feinnadelaspiraten (Luminol)

	1	2	3	4	5	6	7	8
re	2.64±0.6	3.23±0.7	2.44±0.5	1.84±0.6	1.36±0.2	2.43±0.8	1.42±0.2	2.06±0.9
li	2.19±0.6	5.97±2.0	2.18±0.6	1.78±0.8	1.73±0.7	1.72±0.4	1.30±0.1	1.31±0.3
al	3.67±0.6	6.30±2.6	4.25±1.2	6.76±4.8	2.97±0.3	4.82±1.6	5.09±1.9	4.12±1.6
au	2.97±0.8	4.71±1.8	4.32±1.9	5.12±2.9	4.37±1.6	7.33±3.8	7.21±3.0	3.02±0.7
re	5.61±1.1	6.48±1.5	4.87±0.5	3.85±1.1	2.99±0.4	5.78±2.1	3.05±0.4	4.10±1.7
li	4.62±1.0	11.8±4.2	4.26±0.9	3.79±1.7	3.70±1.5	3.91±1.1	2.69±0.3	2.69±0.6
al	8.36±1.4	14.3±5.8	10.3±2.9	17.6±14	7.33±0.7	10.9±3.3	11.7±4.2	9.76±3.8
au	9.21±2.6	10.5±4.0	10.5±4.6	4.48±0.6	10.4±4.0	17.4±9.0	16.6±6.7	6.32±1.8

= Luminol

= Maxima in cpm x 10³/1000 Zellen und Integrale in cpm x 10⁴/1000 Zellen

= rechte und linke Niere in der autologen Gruppe

= allogene und autologe Niere in der allogenen Gruppe

8. Chemilumineszenz aus Feinnadelaspiraten (Lucigenin)

	1	2	3	4	5	6	7	8
re	4.76±1.4	5.77±2.1	4.06±1.5	3.41±1.3	4.77±2.0	4.99±1.9	3.80±0.7	5.46±1.9
li	4.92±1.9	6.78±2.0	5.61±2.0	3.84±2.0	10.1±7.9	3.36±1.0	3.38±0.6	3.18±0.7
al	6.80±1.8	15.3±6.7	10.6±3.4	5.71±1.5	6.52±0.5	10.8±3.7	10.6±4.0	6.00±1.2
au	8.64±3.1	10.8±3.7	9.78±4.9	9.15±5.2	11.5±5.1	8.19±1.7	12.2±7.0	7.62±2.2
re	13.1±3.9	15.3±5.8	11.4±4.0	9.10±3.0	13.6±5.4	14.4±5.4	10.6±1.7	14.9±5.1
li	13.5±5.2	17.0±4.9	15.1±5.0	8.50±3.5	22.9±16	9.12±2.4	9.16±1.6	8.77±1.8
al	13.7±3.2	35.4±19	23.0±7.8	11.9±1.9	17.9±1.5	32.3±16	25.6±11	18.0±4.4
au	12.6±4.1	27.4±12	24.4±10	25.3±15	25.5±14	22.1±6.0	38.7±24	16.9±3.6

= Lucigenin

= Maxima in cpm x 10³/1000 Zellen und Integrale in cpm x 10⁴/1000 Zellen

= rechte und linke Niere in der autologen Gruppe

= allogene und autologe Niere in der allogenen Gruppe

	1	2	3	4	5	6	7	8	
Max	re	3.02±0.6	5.13±1.0	5.15±1.7	3.37±1.1	1.90±0.4	4.10±1.0	1.86±0.2	3.27±1.1
	li	2.60±0.6	8.14±2.6	3.58±1.0	4.23±2.4	2.73±1.0	3.04±1.1	3.52±1.9	1.88±0.2
	al	4.72±0.9	9.02±3.2	6.23±1.5	11.5±6.3	7.54±1.4	11.0±4.1	10.9±2.3	7.82±2.3
	au	5.12±1.2	6.45±2.0	5.96±2.6	8.38±5.0	9.78±4.5	10.6±4.4	10.0±4.0	4.70±1.0
Int	re	6.36±1.2	10.1±1.9	10.7±3.7	7.03±2.0	4.22±0.6	9.64±2.7	4.00±0.3	6.70±2.0
	li	5.50±1.1	15.7±5.3	6.96±1.6	8.80±4.7	5.74±2.2	6.92±2.8	7.16±3.7	3.85±0.5
	al	10.8±2.1	20.1±7.0	15.1±3.4	29.4±19	16.5±3.1	25.1±9.1	25.6±5.1	18.9±5.6
	au	11.6±2.8	20.1±7.0	14.8±6.4	6.93±0.9	24.0±11	25.5±11	22.9±8.7	10.5±2.1

= Luminol

= Maxima in cpm x $10^3/1000$ Granulozyten und Integrale in cpm x $10^4/1000$ Granulozyten

= rechte und linke Niere in der autologen Gruppe

= allogene und autologe Niere in der allogenen Gruppe

10. Chemilumineszenz aus Feinnadelaspiraten, umgerechnet auf Granulozyten (Lucigenin)

	1	2	3	4	5	6	7	8
re	5.33±1.6	7.93±2.5	9.92±5.6	6.30±2.2	6.64±2.6	8.24±3.2	5.28±1.3	8.12±2.1
li	5.75±2.0	8.98±2.8	9.48±3.2	9.20±5.5	91.1±87	4.90±1.5	8.24±3.8	4.72±1.2
al	8.76±2.8	20.8±8.0	15.2±4.3	14.2±3.4	13.9±2.7	20.8±4.6	24.0±5.4	16.5±3.5
au	11.1±3.4	14.6±4.5	13.7±6.8	15.2±8.9	26.1±13	14.5±4.4	17.7±10	11.4±2.5
re	15.0±4.5	21.8±7.0	27.2±15	16.5±5.1	18.7±7.0	23.0±9.0	14.7±3.3	22.3±5.5
li	15.8±5.4	22.8±6.8	25.4±8.0	19.5±9.0	34.8±24	12.9±3.7	21.5±9.3	12.8±2.5
al	16.3±3.1	48.8±24	35.3±10	36.5±10	33.0±2.7	59.8±18	54.8±16	52.2±11
au	15.3±4.8	35.2±13	33.3±14	41.5±26	61.8±40	38.0±15	52.4±34	28.9±6.4

= Lucigenin

= Maxima in $\text{cpm} \times 10^3/1000$ Granulozyten und Integrale in $\text{cpm} \times 10^4/1000$ Granulozyten

= rechte und linke Niere in der autologen Gruppe

= allogene und autologe Niere in der allogenen Gruppe

G. Bisher veröffentlichte Teilaspekte vorliegender Arbeit

1. Krombach F., F. Schödel, C. Hammer, W. Brendel
Granulocyte activation in renal allograft rejection.
Immunobiol. 168:44, 1984 (Abstrakt)
2. Schödel F., F. Krombach, C. Lersch, C. Hammer, W. Brendel
Respiratory burst activity of polymorphonuclear leukocytes
during acute renal allograft rejection.
Eur. Surg. Res. 17 (Suppl.1):69-70, 1985 (Abstrakt)
3. Krombach F., F. Schödel, C. Lersch, C. Hammer, W. Brendel
Granulozytenaktivierung bei Nierentransplantatabstoßung.
Langenbecks Arch. Chir. Supplement 1985:95-98, 1985
4. Schödel F., F. Krombach, C. Lersch, C. Hammer, W. Brendel
Chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes during
renal allograft rejection.
Transplant. Proc. XVII:2534-2535, 1985

H. Literaturverzeichnis

1. Allen R.C., R.L. Stjernholm, R.H. Steele
Evidence for the generation of an electronic excitation state(s) in human polymorphonuclear leukocytes and its participation in bactericidal activity.
Biochem. Biophys. Res. Com. 47:679-684, 1972

2. Allen R.C., L.D. Loose
Phagocytic activation of a luminol-dependent chemiluminescence in rabbit alveolar and peritoneal macrophages.
Biochem. Biophys. Res. Com. 69:245-252, 1976

3. Allen R.C.
Lucigenin chemiluminescence : a new approach to the study of polymorphonuclear leukocyte redox activity.
In : Bioluminescence and Chemiluminescence
Hrsg.: M.A. DeLuca und W.D. McElroy
Academic Press, New York, USA, S.63-71, 1981

4. Allen R.C.
Chemiluminescence and the study of phagocyte redox metabolism.
In : Biochemistry and Function of Phagocytes
Hrsg.: F. Rossi
Plenum Publishing Corp., New York, USA, S.411-419, 1982

5. Allen R.C.

Biochemiexcitation : chemiluminescence and the study of biological oxygenation reactions.

In : Chemical and Biological Generation of Excited States

Hrsg.: W. Adam und G. Cilento

Academic Press, New York, USA, S.309-344, 1982

6. Allen R.C.

Chemiluminescence as an approach to the study of phagocyte biochemistry and humoral immune mechanisms.

In : Analytical Applications of Bioluminescence and Chemiluminescence

Hrsg.: L.J. Kricka, P.E. Stanley, G.H.G. Thorpe und T.P. Whitehead

Academic Press, London, UK, S.279-288, 1984

7. Angle M.J, P.H. Klesius

Luminol-dependent chemiluminescence analysis of the variables of the phagocytic response by canine granulocytes.

Veterinary Immunol. Immunopathol. 4:333-344, 1983

8. Asher N.L., R. Hoffman, S. Chen, R.L. Simmons

Specific and nonspecific infiltration of sponge matrix allografts by specifically sensitized cytotoxic lymphocytes.

Cell. Immun. 52:38.47, 1980

9. Asher N.L., R.A. Hoffman, D.W. Hanto, R.L. Simmons
Cellular basis of allograft rejection.
Immunol. Rev. 77:217-232, 1984
10. Aviram I., Y.I. Henis
Activation of human neutrophil NADPH oxidase and lateral mobility of membrane proteins.
Biochim. Biophys. Acta 805:227-231, 1984
11. Badwey J.A., M.L. Karnovsky
Active oxygen species and the functions of phagocytic leukocytes.
Ann. Rev. Biochem. 49:695-726, 1980
12. Balch C.M., C.B. Wilson, S. Lee, J.D. Feldman
Thymus-dependent lymphocytes in tissue sections of rejecting rat renal allografts.
J. Exp. Med. 138:1584-1590, 1973
13. Baldridge C.W., R.W. Gerard
The extra respiration of phagocytosis.
Amer. J. Physiol. 103:235-236, 1933
14. Barnes R.M.R., L.C. Alexander, S. Steen
Evaluation of immunologic parameters during renal graft rejection.
Transplant. Proc. XV:1789-1792, 1983

15. Bass D.A., J.W. Parce, L.R. DeChatelet, P. Szejda,
M.C. Seeds, M. Thomas
Flow cytometric studies of oxidative product formation
by neutrophils : a graded response to membrane
stimulation.
J. Immunol. 130:1910-1917, 1983

16. Begemann H., J. Rastetter
Atlas der klinischen Hämatologie
Springer, Berlin, 3.Auflage, 1978

17. Belitsky P., R. Gupta, J. Campbell
Diagnosis of acute cellular rejection in kidney
allografts by fine needle aspiration cytology.
Transplant. Proc. XVI:1076-1079, 1984

18. Bender J.G., L.C. McPhail, D.E. Van Epps
Exposure of human neutrophils to chemotactic factors
potentiates activation of the respiratory burst enzyme.
J. Immunol. 130:2316-2323, 1983

19. Bender J.G., D.E. Van Epps
Stimulus interactions in release of superoxide anion
from human neutrophils.
Inflammation 9:67-79, 1985

20. Berkow R.L., D. Tzeng, T.D. Coates, R.L. Baehner
 The comparative effects of counterflow centrifugal
 elutriation and ficoll-hypaque gradient centrifugation
 on human polymorphonuclear leukocyte activation.
 Fed. Proc. 42:695, 1983, (Abstr.)

21. Bird J., J.P. Giroud
 The reactivity of neutrophils at the site of an acute
 inflammatory reactions as measured by chemiluminescence.
 Agents and Actions 15:349-355, 1984

22. Block T.
 Feinnadelaspirationsbiopsie und Transplantat -
 aspirationszytologie zur Untersuchung der
 immunsuppressiven Wirkungen antilymphozytärer Antikörper
 (ALG) direkt im Transplantat nach allogener Hunde -
 Nierentransplantation.
 Dissertation, LMU, München, 1984

23. Boehringer Mannheim
 Bioluminescence, Chemiluminescence
 in: Methods of Bioluminescence Analysis
 Boehringer, Mannheim, o.J., o.A.

24. Bogman M.J.J.T., I.M.H.A. Cornelissen, R.A.P. Koene
 Absence of requirement for polymorphonuclear
 granulocytes in the acute antibody - mediated rejection
 of murine skin allografts.
 Transplantation 37:402-405, 1984

25. Boraschi D., A. Tagliabue
Multiple modulations of macrophage functions by lymphokines : different effects of interferon and macrophage activating factor.
Lymphokines 9:71-108, 1984
26. Borregard N., J.H. Schwartz, A.I. Tauber
Proton secretion by stimulated neutrophils.
J. Clin. Invest. 74:455-459, 1984
27. Boyum A.
Separation of leukocytes from blood and bone marrow.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 21 (Suppl.97):77-89, 1968
28. Brestel E.P.
Co-oxidation of luminol by hypochlorite and hydrogen peroxide.
Implications for neutrophil chemiluminescence.
Biochem. Biophys. Res. Com. 126:482-488, 1985
29. Brown G.E., S.E. Fischkoff, J.V. Ordonez
Development of membrane - potential responsiveness by myeloid leukemia cells during neutrophilic differentiation.
Biochem. Biophys. Res. Com. 123:937-943, 1984

30. Burdick J.F., W.E. Beschorner, W.J. Smith, D. McGraw,
W.L. Bender, G.M. Williams, K. Solez
Characteristics of early routine renal allograft
biopsies.
Transplantation 38:679-684, 1984
31. Calne R.Y., K. Rolles, S. Thiru, P. McMaster,
G.N. Craddock, S. Aziz, D.J.G. White, D.B. Evans, D.C.
Dunn, R.G. Henderson, P.Lewis
Cyclosporine A initially as the only immunosuppressant
in 34 recipients of cadaveric organs : 32 kidneys, 2
pancreases, and 2 livers.
Lancet ii:1033-1036, 1979
32. Chatenoud L., N. Chkoff, H. Kreis, J.F. Bach
Interest in and limitations of monoclonal anti-T-cell
antibodies for the follow - up of renal transplant
patients.
Transplantation 36:45-50, 1983
33. Cheung K., A.C. Archibald, M.F. Robinson
The origin of chemiluminescence produced by neutrophils
stimulated by opsonized zymosan.
J. Immunol. 130:2324-2329, 1983
34. Cohn Z.A.
Activation of mononuclear phagocytes : fact, fancy and
future.
J. Immunol. 121:813-816, 1978

35. Coleman D.L., K.E. Culver, J.L. Ryan
Enhancement of macrophage immune and nonimmune receptor
- mediated phagocytosis by a low molecular weight
soluble factor from resident thymocytes.
J. Immunol. 133:3121-3127, 1984
36. Cross A.S., G.H. Lowell
Stimulation of polymorphonuclear leukocyte bactericidal
activity by supernatants of activated human mononuclear
cells.
Infect. Immun. 22:502-507, 1978
37. Czop J.K., D.T. Fearon, K.F. Austen
Opsonin - independent phagocytosis of activators of the
alternative complement pathway by human monocytes.
J. Immunol. 120:1132-1138, 1978
38. Czop J.K., D.T. Fearon, K.F. Austen
Membrane sialic acid on target particles modulates their
phagocytosis by a trypsin - sensitive mechanism on human
monocytes.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:3831-3835, 1978
39. Czop J.K., K.F. Austen
Functional discrimination by human monocytes between
their C3b receptors and their recognition units for
particulate activators of the alternative complement
pathway.
J. Immunol. 125:124-128, 1980

40. Czop J.K., K.F. Austen

A beta - glucan inhibitable receptor on human monocytes : its identity with the phagocytic receptor for particulate activators of the alternative complement pathway.

J. Immunol. 134:2588-2593, 1985

41. Dahlgren C., O. Stendahl

Role of myeloperoxidase in luminol - dependent chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes.

Infect. Immun. 39:736-741, 1983

42. Dahlgren C., H. Aniansson, K.E. Magnusson

Pattern of formylmethionyl - leucyl - phenylalanine - induced luminol - and lucigenin - dependent chemiluminescence in human neutrophils.

Infect. Immun. 47:326-328, 1985

43. De Campos Freire G., G.M. De Goes, J.G. De Campos Freire

Extravesical ureteral implantation in kidney transplantation.

Urology III:304-308, 1974

44. Dechatelet L.R., P.S. Shirley, L.C. McPhail, C.C.

Huntley, H.B. Muss, D.A. Bass

Oxidative metabolism of the human eosinophil.

Blood 50:525-535, 1977

45. Dechatelet L.R., P.S. Shirley
Evaluation of chronic granulomatous disease by a chemiluminescence assay of microliter quantities of whole blood.
Clin. Chem. 27:1739-1741, 1981
46. Dechatelet L.R., G.D. Long, P.S. Shirley, D.A. Bass, M.J. Thomas, F.W. Henderson, M.S. Cohen
Mechanism of the luminol - dependent chemiluminescence of human neutrophils.
J. Immunol. 129:1589-1593, 1982
47. Descamps-Latscha B., A.T. Nguyen, H. Campos, D. Droz, H. Kreis, J. Crosnier
Investigation of the oxidative metabolism of infiltrating phagocytic cells in human renal allografts.
In : Renal Transplant Cytology
Hrsg.: H. Kreis, D. Droz
Wichtig Editore, Mailand, Italien, S.151-158, 1984
48. Dierich M.P., T. Schulz
The nature and function of complement receptors.
Progr. in Immunol. V:407-408, 1983
49. D'Onofrio C., F.E. Maly, D. Maas
Differential generation of chemiluminescence - detectable oxygen radicals by polymorphonuclear leukocytes challenged with sera from systemic lupus erythematosus and rheumathoid arthritis patients.
Klin. Wochenschr. 62:710-716, 1984

50. Easmon C.S.F., P.J. Cole, A.J. Williams, M. Hastings
The measurement of opsonic and phagocytic function by
luminol - dependent chemiluminescence.
Immunol. 41:67-74, 1980
51. Editorial, ohne Autorenanangabe
Metal chelation therapy, oxygen radicals, and human
disease.
Lancet i:143-145, 1985
52. Elsbach P., J. Weiss
A reevaluation of the roles of the O_2^- - dependent and
 O_2 - independent microbicidal system of phagocytes.
Rev. Infect. Dis. 5:843-853, 1983
53. Ernst M., M. Heberer, H. Fischer
Chemiluminescence measurements of immune cells - a tool
in immunobiology and clinical research.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 21:555-560, 1983
54. Faden H., N. Maciejewski
Whole blood luminol - dependent chemiluminescence.
J. Reticuloendothelial Soc. 30:219-226, 1981
55. Fantone J.C., P.A. Ward
III. Mechanisms of lung parenchymal injury.
Amer. Rev. Resp. Dis. 130:484-491, 1984

56. Farnsworth A., B.M. Hall, A.B.P. Ng, G.G. Duggin, J.S. Horvath, A.G.R. Sheil, D.J. Tiller
Renal biopsy morphology in renal transplantation.
Am. J. Surg. Pathol. 8:243-252, 1984
57. Fearon D.T.
Identification of the membrane glycoprotein that is the C3b receptor of the human erythrocyte, polymorphonuclear leukocyte, B lymphocyte, and monocyte.
J. Exp. Med. 152:20-30, 1980
58. Fearon D.T., L.A. Collins
Increased expression of C3b receptors on polymorphonuclear leukocytes induced by chemotactic factors and by purification procedures.
J. Immunol. 130:370-375, 1983
59. Fearon D.T.
Structure and function of the human C3b receptor.
Fed. Proc. 43:2553-2557, 1984
60. Fearon D.T.
Cellular receptors for fragments of the third component of complement.
Immunol. Today 5:105-110, 1984

61. Fiche M., J.P. Soullillou, J.D. Bignon, S. Billaudel, J. Guenel
T-lymphocyte monitoring in kidney transplant recipients undergoing cytomegalovirus infection or rejection episodes.
Transplantation 37:421-423, 1984
62. Fligiel S.E.G., P.A. Ward, K.J. Johnson, G.O. Till
Evidence for a role of hydroxyl radical in immune - complex - induced vasculitis.
Am. J. Pathol. 115:375-382, 1984
63. Forbes R.D.C., R.D. Guttman
Pathogenetic studies of cardiac allograft rejection using inbred rat models.
Immunol. Rev. 77:5-29, 1984
64. Ganz M., G. Thiel, M. Heberer, F. Harder
Prospective evaluation of granulocyte - chemiluminescence as a parameter of kidney transplant rejection.
Eur. Surg. Res. 17 (Suppl.1):32, 1985 (Abstrakt)
65. Gay J.C., J.K. Beckman, A.R. Brash, J.A. Oates, J.N. Lukens
Enhancement of chemotactic factor - stimulated neutrophil oxidative metabolism by leukotriene B₄.
Blood 64:780-785, 1984

66. Glette J., C.O. Solberg, V. Lehmann
Factors influencing human polymorphonuclear leukocyte chemiluminescence.
Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. C 90:91-95, 1982
67. Goldstein I.M.
Neutrophil degranulation.
In : Regulation of Leukocyte Function
Hrsg.: R. Snyderman
Plenum Publ. Corp., New York, USA, S.189-219, 1984
68. Goulmy E., G. Persijn, E. Blokland, J. D'Amato, J.J. van Rood
Cell - mediated lympholysis studies in renal allograft recipients.
Transplantation 31:210-217, 1981
69. Granelli-Piperno A., J.D. Vasselli, E. Reich
RNA and protein synthesis in human peripheral blood polymorphonuclear leukocytes.
J. Exp. Med. 149:284-289, 1979
70. Gregoir W.
Le traitement chirurgical du reflux vésico - urétéral congénital.
Acta Chir. Belg. 4:431-439, 1964

71. Griffin F.M., P.J. Mullinax
Augmentation of macrophage complement receptor function
in vitro.
J. Exp. Med. 160:1206-1218, 1984
72. Griffin J.D., S.C. Meuer, S.F. Schlossman, E.L. Reinherz
T-cell regulation of myelopoiesis : analysis at a clonal
level.
J. Immunol. 133:1863-1868, 1984
73. Guthrie L.A., L.M. McPhail, P.M. Henson, R.B. Johnston
Priming of neutrophils for enhanced release of oxygen
metabolites by bacterial lipopolysaccharide.
J. Exp. Med. 160:1656-1671, 1984
74. Guttman R.D., R. Poulsen
Fluorescence activated cell sorter analysis of
lymphocytes following renal allotransplantation.
Transpl. Proc. XIII:1579-1583, 1981
75. Guttman R.D., R.S. Poulsen
Fluorescence activated cell sorter analysis of
lymphocyte subsets after renal transplantation.
Transpl. Proc. XV:1160-1162, 1983

76. Guttman R.D., R.S. Poulsen
FACS Analysis of lymphocyte subsets after renal transplantation : clinical correlates and evidence for reduced expression of antigen density associated with chronic immunosuppression.
Transpl. Proc. XV:1962-1965, 1983
77. Hafeman D.G., H.M. McConnell, J.W. Gray, P.N. Dean
Neutrophil activation monitored by flow cytometry : stimulation by phorbol diester is an all-or-none event.
Science 215:673-675, 1982
78. Halliwell B., J.M.C. Gutteridge
Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease.
Biochem. J. 219:1-14, 1984
79. Harvath L., R.R. Aksmit
Oxidized N-Formylmethionyl-leucyl-phenylalanine : effect on the activation of human monocyte and neutrophil chemotaxis and superoxide production.
J. Immunol. 133:1471-1476, 1984
80. Hastings M.J.G., I. Petricevic, A.J. Williams, P.J. Cole, C.S.F. Easmon
The effect of culture media on the production and measurement of luminol - dependent chemiluminescence.
Br. J. Exp. Path. 63:147-153, 1982

81. Häyry P., E. v. Willebrand
Practical guidelines for fine needle aspiration biopsy
of human renal allografts.
Ann. Clin. Res. 13:288-306, 1981
82. Häyry P., E. v. Willebrand, J. Ahonen, D. Eklund,
I. Lautenschlager
Monitoring of organ allograft rejection by transplant
aspiration cytology.
Ann. Clin. Res. 13:264-287, 1981
83. Heberer M., M. Ernst, F. Harder, H. Fischer
Die Chemilumineszenz von Granulozyten bei Tumor- und
Transplantationspatienten.
Langenbecks Arch. Chir. 355:543, 1981 (Abstrakt)
84. Heberer M., M. Ernst, M. Allgöwer, H. Fischer
Measurement of chemiluminescence in freshly drawn human
blood.
Klin. Wochenschr. 60:1443-1448, 1982
85. Heberer M., A.M. Zbinden, M. Ernst, M. Dürig, F. Harder
The effect of surgery and anesthetic agents on
granulocyte - chemiluminescence in whole blood.
Experientia 41:342-346, 1985
86. Horstmann R.D., M.K. Pangburn, H.J. Müller-Eberhard
Species specificity of recognition by the alternative
pathway of complement.
J. Immunol. 134:1101-1104, 1985

87. Hutchinson T.A., D.C. Thomas, J.C. Lemieux, C.E. Harvey
Prognostically controlled comparison of dialysis and
renal transplantation.
Kidney Intern. 26:44-51, 1984
88. Iyer G.Y.N., D.M.F. Islam, J.H. Quastel
Studies of the metabolic activity of leukocytes from
patients with a genetic abnormality of phagocytic
function.
J. Clin. Invest. 46:1422-1432, 1967
89. Janco R.L., D. English
Cyclosporine and human neutrophil function.
Transplantation 35:501-503, 1983
90. Johnson E., T. Eskeland, K. Bertheussen
Phagocytosis by human monocytes of particles activating
the alternative pathway of complement.
Scand. J. Immunol. 19:31-39, 1984
91. Johnson K.J., J.C. Fantone, J. Kaplan, P.A. Ward
In vivo damage of rat lungs by oxygen metabolites.
J. Clin. Invest. 67:983-993, 1981
92. Kahan B.D.
Immunologic monitoring : utility and limitations.
Transplant. Proc. XVII:1537-1545, 1985

93. Kahan B.D., C.T. Van Buren, S.M. Flechner, M. Jarowenko,
T. Yasumura, A.J. Rogers, N. Yoshimura, S. LeGrue, D.
Drath, R.H. Kerman
Clinical and experimental studies with cyclosporine in
renal transplantation.
Surg. 97:125-140, 1985
94. Kato T., H. Wokalek, E. Schöpf, H. Eggert, M. Ernst,
E.T. Rietschel, H. Fischer
Measurement of chemiluminescence in freshly drawn blood.
Klin. Wochenschr. 59:203-211, 1981
95. Kaufmann S.H.E., V. Brinkmann
Attempts to characterize the T-cell population and
lymphokine involved in the activation of macrophage
oxygen metabolism in murine listeriosis.
Cell. Immunol. 88:545-550, 1984
96. Kincaid-Smith P.
Histological diagnosis of rejection of renal homografts
in man.
Lancet ii:849-852, 1967

97. Koller C., J. Stadler, C. Hammer, B. Schneider, W. Land, W. Brendel
Evaluation of FNAB and TAC by coulter counting.
In : Renal Transplant Cytology
Hrsg.: H. Kreis, D. Droz
Wichtig Editore, Mailand, Italien, S.39-44, 1984
98. Koller C., C. Hammer, J.M. Gokel, W. Land, D. Hillebrand, L.A. Castro, J. Stadler, B. Weber
Correlation between core biopsy and aspiration cytology.
Transpl. Proc. XVI:1298-1300, 1984
99. Korchak H.M., K. Vienne, L.E. Rutherford, G. Weissmann
Neutrophil stimulation : receptor, membrane, and metabolic events.
Federat. Proc. 43:2749-2754, 1984
100. Krakauer H., S. Grauman, M.R. McMullan, C.C. Creede
The recent U.S. experience in the treatment of end-stage renal disease by dialysis and transplantation.
New Engl. J. Med. 308:1558-1563, 1983
101. Krause P.-H.
Morphologie der Abstoßungsreaktionen.
In : Transplantationschirurgie
Hrsg.: R. Pichlmayr
Springer, Berlin, S.267-328, 1981

102. Kreis H.A.
Use of fine needle aspiration cytology to diagnose rejection.
Transplant. Proc. XVI:1569-1572, 1984
103. Krombach F., F. Schödel, M. Rath, M. Gokel, J. Lissner
W. Brendel
Renal transplant rejection in pathology, fine needle aspiration cytology, and magnetic resonance imaging : a comparative study.
Vortrag a. d. 2.Kongress der 'European Society for Organ Transplantation', Nov. 1985, wird in Transplant. Proc. veröffentlicht
104. Levey A.S.
The improving prognosis after kidney transplantation.
Arch. Intern. Med. 144:2382-2387, 1984
105. Lichtenstein A., J. Kahle
Anti - tumor effect of inflammatory neutrophils : characteristics of in vivo generation and in vitro tumor cell lysis.
Int. J. Cancer 35:121-127, 1985
106. Lomnitzer R., A. Glover, A.R. Rabson
The effect of PHA - activated MN -cell supernatants on polymorphonuclear leukocyte function.
Clin. Exp. Immunol. 29:501-508, 1977

107. Lotze M.T., D.M. Marquis, A.S. Carey, B.J. Byer, W.E. Hoy, A.G. May
Two new assays for the early detection of transplant rejection : IL-2 response and PHA - augmented NK activity.
Transplant. Proc. XV:1796-1799, 1983

108. MacPherson G.G., S.E. Christmas
The role of the macrophage in cardiac allograft rejection in the rat.
Immunol. Rev. 77:143-166, 1984

109. Macrae E.K., K.B. Pryzwansky
Phagocytosis of zymosan by human neutrophils.
Carlsberg Res. Commun. 49:315-322, 1984

110. Maury C.P.J., A.-M. Teppo
Comparative study of serum amyloid - related protein SAA, C-reactive protein, and beta₂-microglobulin as markers of renal allograft rejection.
Clin. Nephrol. 22:284-292, 1984

111. McPhail L.C., C.C. Clayton, R. Snyderman
The NADPH oxidase of human polymorphonuclear leukocytes.
J. Biol. Chem. 259:5768-5775, 1984

112. Metzger Z., J.T. Hoffeld, J.J. Oppenheim
Regulation by PGE₂ of the production of oxygen intermediates by LPS - activated macrophages.
J. Immunol. 127:1109-1113, 1981

113. Moore R.N., J.J. Oppenheim, J.J. Farrar, S.S. Carter, A. Waheed, R.K. Shaddock
Production of lymphocyte - activating factor (IL-1) by macrophages activated with colony stimulating factor.
J. Immunol. 125:1302-1305, 1980
114. Murray H.W., B.Y. Rubin, S.M. Carriero, A.M. Harris, E.A. Jaffee
Human mononuclear phagocyte antiprotozoal mechanisms : oxygen - dependent vs oxygen - independent activity against intracellular *Toxoplasma Gondii*.
J. Immunol. 134:1982-1988, 1985
115. Naccache P.H., R.I. Sha'afi
Granulocyte activation.
Survey Immunol. Res. 3:288-294, 1984
116. Najarian J.S., D.S. Fryd, M. Strand, D.M. Canafax, N.L. Asher, W.D. Payne, R.L. Simmons, D.E.R. Sutherland
A single institution, randomized, prospective trial of cyclosporine versus azathioprine - antilymphocyte globulin for immunosuppression in renal allograft recipients.
Annals Surg. 201:142-157, 1985
117. Nathan C.F., H.W. Murray, M.E. Wiebe, B.Y. Rubin
Identification of interferon-gamma as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity.
J. Exp. Med. 158:670-689, 1983

118. Nelson R.D., M.J. Herron, J.R. Schmidtke, R.L. Simmons
Chemiluminescence response of human leukocytes :
influence of medium components on light production.
Infection and Immunity 17:513-520, 1977
119. Niwa Y., T. Sakane, Y. Miyachi, T. Kanoh, K. Somiya
Decrease in generation of reactive oxygen species by
neutrophils from patients with infectious mononucleosis
: role of suppressor T lymphocytes.
Blood 64:994-999, 1984
120. Orlic P., M. Kapovic, M. Anicic, D. Rukavina, V.
Franciskovic
Our experience in immunological monitoring after kidney
transplantation.
Period. Biol. 85 (Supp. 3):195-197, 1983
121. O'Shea J.J., E.J. Brown, B.E. Seligmann, J.A. Metcalf
M.M. Frank, J.I. Gallin
Evidence for distinct intracellular pools of receptors
for C3b and C3bi in human neutrophils.
J. Immunol. 134,2580-2587, 1985
122. Ozaki Y., J. Iwata, T. Ohashi
Mechanism of neutrophil chemiluminescence induced by
wheat germ agglutinin : partial characterization of the
antigens recognized by wheat germ agglutinin.
Blood 64:1094-1102, 1984

123. Pace J.L., S.W. Russell, R.D. Schreiber, A. Altman, D.H. Katz
Macrophage activation : priming activity from a T-cell hybridoma is attributable to interferon-gamma.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:3782-3786, 1983
124. Paller M.S., J.R. Hoidal, T.F. Ferris
Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat.
J. Clin. Invest. 74:1156-1164, 1984
125. Pasternack A.
Fine - needle aspiration biopsy of human renal homografts.
Lancet ii:82-84, 1968
126. Pasternack A., M. Virolainen, P. Häyry
Fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of human renal allograft rejection.
J. Urol. 109:167-172, 1973
127. Patriarca P.
The biology of phagocytes.
Europ. J. Clin. Invest. 14:315-316, 1984

128. Pichlmayr R., G.Tidow
Operationsmethoden und Operationstechnik -
Standardverfahren.
In : Transplantationschirurgie
Hrsg.: R. Pichlmayr
Springer, Berlin, S.529-568, 1981
129. Pick E., M. Freund
Biochemical mechanisms in macrophage activation by
lymphokines : intracellular peroxide production by
lymphokine - treated macrophages.
Progress in Immunol. V:295-306, 1983
130. Porter R.R.
Introduction to the complement system.
Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 306:279-281, 1984
131. Poston L., R.B. Jones, P.F. Hilton
Sodium transport in polymorphonuclear leukocytes. Effect
of isolation by the Ficoll/Triosil method.
Clin. Sci. 62:563-564, 1982
132. Rapaport F.T., R.J. Bachvaroff
Current trends in immunologic surveillance and
monitoring.
Transpl. Proc. XV:1999-2003, 1983

133. Rashid A., D.P.S. Sengar, J.E. Harris
Relationship of donor - specific mixed lymphocyte
culture reactivity to graft function in recipients of
cadaveric renal allografts.
Clin. Exp. Immunol. 36:521-527, 1979
134. Redl H., P.J. Flynn, H. Lamche, A. Schiesser, G. Schlag,
D.E. Hammerschmidt
Aggregation, chemotaxis, and chemiluminescence of canine
granulocytes.
Inflammation 7:67-80, 1983
135. Redl H., H. Lamche, G. Schlag
Red cell count dependence of whole blood granulocyte
luminescence.
Klin. Wochenschr. 61:163-164, 1983
136. Rehan A., K.J. Johnson, R.C. Wiggins, R.G. Kunkel, P.A.
Ward
Evidence for the role of oxygen radicals in acute
nephrotoxic nephritis.
Lab. Invest. 51:396-493, 1984
137. Robinson J.P., R. Penny
Chemiluminescence response in normal human phagocytes.
I. Automated measurements using a standard liquid
scintillation counter.
J. Clin. Lab. Immunol. 7:215-217, 1982

138. Robinson J.P., R. Penny
Chemiluminescence response in normal human phagocytes.
II. Effect of paraproteins.
J. Clin. Lab. Immunol. 7:219-221, 1982
139. Robinson P., D. Wakefield, S.N. Breir, J.F. Easter, R. Penny
Chemiluminescent response to pathogenic organisms :
normal human polymorphonuclear leukocytes.
Infect. Immun. 43:744-752, 1984
140. Rosenthal J.T., T.R. Hakala, S. Iwatsuki, B.W. Shaw, T.E. Starzl
Cadaveric renal transplantation under cyclosporine -
therapy.
Surgery, Gyn. & Obstet. 157:309-315, 1983
141. Ross G.D., J.A. Cain, P.J. Lachmann
Membrane complement receptor type three (CR3) has lectin
- like properties analogous to bovine conglutinin and
functions as a receptor for zymosan and rabbit
erythrocytes as well as a receptor for iC3b.
J. Immunol. 134:3307-3315, 1985
142. Rush D.N., D.A. Niven, J.M. Cook, J.R. Jeffery
Increased monocyte Fc-mediated chemiluminescence in
renal transplant patients.
Transplant. Proc. XVI:1097-1099, 1984

143. Sachs L.
Angewandte Statistik
Springer, Berlin, 6. Auflage, 1984
144. Saltini C., N. Brugni, C. Magnani, S. Capitolo, O. Capelli, G. Velluti, A. Bisetti
Chemiluminescence measurements of phagocytic activity of pulmonary macrophages in sarcoid alveolitis.
Respiration 45:291-295, 1984
145. Sbarra A.J., M.L. Karnovsky
The biochemical basis of phagocytosis.
I. Metabolic changes during the ingestion of particles by polymorphonuclear leukocytes.
J. Biol. Chem. 234:1355-1362, 1959
146. Sedgwick J.B., M.L. Berube, R.B. Zurier
Stimulus-dependent inhibition of superoxide generation by prostaglandins.
Clin. Immunol. Immunopathol. 34:205-215, 1985
147. Seeds M.C., J.W. Parce, P. Szejda, D.A. Brass
Independent stimulation of membrane potential changes and the oxidative metabolic burst in polymorphonuclear leukocytes.
Blood 65:233-240, 1985

148. Sibley R.J., J.J. Rynasiewicz, R.M. Ferguson, D. Fryd, D.E.R. Sutherland, R.L. Simmons, J.S. Najarian
Morphology of cyclosporine nephrotoxicity and acute rejection in patients immunosuppressed with cyclosporine and prednisone.
Surgery 94:225-234, 1983
149. Sibley R.K., R.M. Ferguson, D.E.R. Sutherland, R.L. Simmons, J.S. Najarian
Morphology of cyclosporine nephrotoxicity and acute rejection of cyclosporine - prednisone immunosuppressed renal allograft recipients.
Transpl. Proc. XV:2836-2841, 1983
150. Sklar A., A.J. Jesaitis, R.G. Painter
The neutrophil N-formyl peptide receptor : dynamics of ligand - receptor interactions and their relationship to cellular responses.
Contemp. Top. Immunobiol. 14:29-82, 1984
151. Snyderman R., M.C. Pike
Transductional mechanisms of chemoattractant receptors on leukocytes.
In : Regulation of Leukocyte Function
Hrsg.: R. Snyderman
Plenum Publ. Corp., New York, USA, S.1-28, 1984
152. Solberg C.O., T. Kalager, H.R. Hill, J. Glette
Polymorphonuclear leukocyte function in bacterial and viral disease.
Scand. J. Infect. Dis. 14:11-18, 1982

153. Speer C.P., M.J. Pabst, H.B. Hedegaard, R.F. Rest, R.B. Johnston
Enhanced release of oxygen metabolites by monocyte -
derived macrophages exposed to proteolytic enzymes :
activity of neutrophil elastase and cathepsin G.
J. Immunol. 133:2151-2156, 1984
154. Stähelin H., M.L. Karnovsky, A.E. Farnham, E. Suter
Studies on the interaction between phagocytes and
tubercle bacilli.
III. Some metabolic effects in guinea pigs associated
with infection with tubercle bacilli.
J. Exp. Med. 105:265-277, 1957
155. Stelzer G.T., K.R. McLeish, R.E. Lorden, S.L. Watson
Alteration in T-lymphocyte subpopulations associated
with renal allograft rejection.
Transplantation 37:261-264, 1984
156. Stevens P., D. Hong
The role of myeloperoxidase and superoxide anion in the
luminol- and lucigenin- dependent chemiluminescence of
human neutrophils.
Microchem. J. 30:135-146, 1984
157. Stickle J.E., D. K. Kwan, C.W. Smith
Neutrophil function in the dog : shape change and
response to a synthetic tripeptide.
Am. J. Vet. Res. 46:225-228, 1985

158. Strom T.B. (Principal discussant)
Nephrology Forum
Immunosuppressive agents in renal transplantation.
Kidney Internat. 26:353-365, 1984
159. Strom T.B., J.W. Kupiec-Weglinski, C.D. Heidecke, N.L. Tilney
The cellular and molecular basis of allograft rejection
: fact and fancy.
Transpl. Proc. XVII:801-805, 1985
160. Sullivan G.W., G.R. Donowitz, J.A. Sullivan, G.L. Mandell
Interrelationships of polymorphonuclear neutrophil
membrane- bound calcium, membrane potential, and
chemiluminescence : studies in single living cells.
Blood 64:1184-1192, 1984
161. Szejda P., J.W. Parce, M.S. Seeds, D.A. Bass
Flow cytometric quantitation of oxidative product
formation by polymorphonuclear leukocytes during
phagocytosis.
J. Immunol. 133:3303-3307, 1984
162. Tannenbaum J.S., C.B. Anderson, G.A. Sicard, D.W. McKeel, E.E. Etheredge
Prostaglandin synthesis associated with renal allograft
rejection in the dog.
Transplantation 37:438-443, 1984

163. Thompson J.F., N.P. Carter, E.M. Bolton, D.L. McWhinnie,
R.F.M. Wood, P.J. Morris
The composition of the lymphocytic infiltrate in
rejecting human renal allograft is not reflected by
lymphocyte subpopulations in the peripheral blood.
Transpl. Proc. XVII:556-557, 1985

164. Tono-Oka T., T. Matsumoto, N. Ueno, N. Yashiki, S.
Matsumoto
Chemiluminescence of whole blood.
II. Application to clinical examination of phagocytic
functions of whole blood from various types of diseases.
Clin. Immunol. Immunopathol. 29:333-340, 1983

165. Trinchieri G., B. Perussia
Immune interferon : a pleiotropic lymphokine with
multiple effects.
Immunol. Today 6:131-136, 1985

166. Udén A.-M., I. Hafström, J. Palmblad, L. Engstedt
Effects of human interferon preparations on neutrophil
function.
Acta Med. Scand. 216:176-186, 1984

167. Vadas M.A., N. Nicola, A.F. Lopez, D. Metcalf, G.
Johnson, A. Pereira
Mononuclear cell - mediated enhancement of granulocyte
function in man.
J. Immunol. 133:202-207, 1984

168. Van Es A., W.M. Baldwin, P.J. Oljans, H.J. Tanke, J.S. Ploem, L.A. Van Es
Expression of HLA-DR on T-lymphocytes following renal transplantation, and association with graft rejection episodes and cytomegalovirus infection.
Transplantation 37:65-69, 1984
169. Van Es A., C.J.L.M. Meyer, P.J. Oljans, H.J. Tanke, L.A. Van Es
Mononuclear cells in renal allografts.
Transplantation 37:134-139, 1984
170. Vegt P.A., W.A. Buurman, C.J. van der Linden, A.J.J.M. Daemen, J.M. Greep, J. Jeekel
Cell - mediated cytotoxicity toward canine kidney epithelial cells.
Transplantation 33:465-469, 1982
171. Vie H., M. Bonneville, R. Cariou, J.F. Moreau, J.P. Soullillou
Increased interleukin-2 production by peripheral blood lymphocytes of recipients acutely rejecting their kidney transplants.
Transplant. Proc. XVII:887-889, 1985
172. Vollmer W.M., P.W. Wahl, C.R. Blagg
Survival with dialysis and transplantation in patients with end-stage renal disease.
N. Engl. J. Med. 308:1553-1558, 1983

173. Walker J., G. Opelz, P.I. Terasaki
Correlation of MLC response with graft survival in
cadaver and related donor kidney transplants.
Transplant. Proc. X:949-951, 1978
174. Ward P.A., G.O. Till, R. Kunkel, C. Beauchamp
Evidence for role of hydroxyl radical in complement and
neutrophil- dependent tissue injury.
J. Clin. Invest. 72:789-801, 1983
175. Weisbart R.H., D.W. Golde, S.C. Clark, G.G. Wong, J.C.
Gasson
Human granulocyte - macrophage colony - stimulating
factor is a neutrophil activator.
Nature 314:361-363, 1985
176. Weitzmann S.A., A.B. Weitberg, E.P. Clark, T.P. Stossel
Phagocytes as carcinogens : malignant transformation
produced by human neutrophils.
Science 227:1231-1233, 1985
177. Von Willebrand E.
Fine-needle aspiration cytology of human renal
transplants.
Clin. Immunol. Immunopathol. 17:309-322, 1980

178. Wilson M.E., M.A. Trush, K. v. Dyke, J.M. Kyle, M.D.
Mullett, W.A. Neal
Luminol - dependent chemiluminescence analysis of
opsonophagocytic dysfunctions.
J. Immunol. Meth. 23:315-326, 1978
179. Wokalek H., T. Kato, E. Schöpf, H. Eggert, E.T.
Rietschel, M. Ernst, H. Fischer
Erste Erfahrungen mit der Chemilumineszenz- Messung in
humanem Vollblut.
Akt. Dermatol. 6:161-166, 1980

Zu besonderem Dank verpflichtet weiß ich mich:

Herrn Prof.Dr.Dr.h.c. W. Brendel, der mich in sein Institut aufgenommen und mit seiner Begeisterungsfähigkeit immer angespornt hat.

Herrn Prof.Dr. V. Hochstein-Mintzel, von dem ich wissenschaftliches Arbeiten zuerst lernte.

Herrn Prof.Dr.med.Dr.med.vet. C. Hammer für die Durchsicht der Arbeit und Dr. F. Krombach für Hilfe und Kritik.

Herrn Prof.Dr. J.M. Gokel, der die histologischen Untersuchungen durchführte.

Frau G. Höbel, für meisterliche Unterstützung bei Abbildungen und Tabellen und Herrn Frisch, stellvertretend für alle Tierpfleger, ohne die die Experimente undenkbar gewesen wären.

Lebenslauf

Am 9.12.1956 wurde ich als erstes Kind des Forstdirektors Hubert Schödel und seiner Ehefrau Friederike Schödel, geb. Straller, in München geboren.

Die Volksschule besuchte ich in Gauting von 1963 bis 1967. Von 1967 bis 1972 schloß sich der Besuch des neusprachlichen Gymnasiums Gauting an, das ich mit Abschluß der 10. Klasse verließ. 1972 bis 1973 arbeitete ich als Werkzeugmacherlehrling bei den Bayerischen Leichtmetallwerken in München. Im Herbst 1973 trat ich in das Pestalozzi Gymnasium (musisch) in München ein und erwarb dort am 25.6.1976 die Allgemeine Hochschulreife.

Zum Sommersemester 1977 nahm ich an der Technischen Universität München das Studium der Humanmedizin auf und bestand im März 1979 die Ärztliche Vorprüfung. Nach Famulaturen in Kinderchirurgie, Innerer Medizin, Allgemeinpraxis und Impf- und Tropenmedizin legte ich im März 1980 den ersten Abschnitt, im März 1982 den zweiten und am 21.4.1983 den dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab. Im praktischen Jahr arbeitete ich in der Kinderärztlichen Abteilung des Krankenhauses München Schwabing, in der I. und II. Medizinischen Klinik und der Chirurgischen Klinik der TUM, Krankenhaus rechts der Isar. Nach dem letzten Tertial war ich 6 Wochen als Unterassistent in der chirurgischen Abteilung des Kantonsspitals Basel in Liesthal (Prof.Dr. M. Rossetti) tätig. Während des Studiums arbeitete ich als studentische Hilfskraft bei Prof.V. Hochstein-Mintzel (Bayer. Landesimpfanstalt, Prof. H. Stickl). Am 25.4.1983 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Seit Juni 1983 bin ich als wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Chirurgische Forschung der Universität München (Vorstand: Prof.Dr.Dr.h.c. W. Brendel) beschäftigt.

Am 12.8.1983 habe ich meine Frau Vera Schödel, geb. Mayr, geheiratet. Wir haben eine Tochter.

